UNIVERSITÉ DE PARIS VI

FACULTÉ DE MÉDECINE PITIÉ-SALPÊTRIÈRE

Année 1971 **THÈSE** N° 87

POUR LE

# DOCTORAT EN MÉDECINE

(Diplome d'état)

PAR


G O U S T JEAN-MICHEL, CHRISTIAN

né le 21 janvier 1941 à SAINT-MANDE (Seine)

**Interne des hopitaux de Paris**

ATTACHE, ASSISTANT AU C.H.U. PITIE-SALPETRIERE


*PRÉSENTÉE ET SOUTENUE PUBLIQUEMENT LE*

CONTRIBUTION A L'ETUDE D'UN NOUVEAU TEST D'HYPERSENSIBILITE RETARDEE "IN VITRO" CHEZ L'HOMME : LE TEST DE MIGRATION DES LEUCOCYTES (T.M.L.)

**Président : Monsieur BERTHAUX, Professeur**

UNIVERSITÉ DE PARIS VI

FACULTÉ DE MÉDECINE PITIÉ-SALPÊTRIÈRE

Année 1971 **THÈSE** N°

POUR LE

# DOCTORAT EN MÉDECINE

(Diplome d'état)

PAR

G O U S T JEAN-MICHEL, CHRISTIAN

né le 21 janvier 1941 à SAINT-MANDE (Seine)

**Interne des hopitaux de Paris**

ATTACHE, ASSISTANT AU C.H.U. PITIE-SALPETRIERE

*PRÉSENTÉE ET SOUTENUE PUBLIQUEMENT LE*

CONTRIBUTION A L'ETUDE D'UN NOUVEAU TEST D'HYPERSENSIBILITE RETARDEE "IN VITRO" CHEZ L'HOMME :

LE TEST DE MIGRATION DES LEUCOCYTES (T.M.L.)

**Président : Monsieur BERTHAUX, Professeur**

UNIV.
LEIDEN
BIBL.

A M A F E M M E

A M E S F I L S
Olivier et Thierry

A M E S P A R E N T S
Qui ont su m'apprendre que la médecine n'était pas seulement connaissance, et que l'homme ne se résume pas à son corps.

A M O N S I E U R L E Pr. L A R O C H E

L'ambiance dynamique et harmonieuse qu'il a su insufler à son service ont rendu passionnants et agréables les moments que j'y ai passé. Qu'il veuille bien accepter ici l'expression de ma respectueuse reconnaissance.

A M O N S I E U R L E Pr. B E R T H A U X

Qui a bien voulu m'accepter dans son laboratoire ou fut réalisé le travail nécessaire à cette thèse. La clarté de son intelligence fut, au cours des années passées avec lui, mon meilleur guide.

Au Dr. R. M O U L I A S et au Dr.C.N. B E R A T - M U L L E R

Qui ont bien voulu me confier ce sujet de thèse. Leur amitié, leurs conseils et leur expérience ont été essentiels pour sa réalisation.

Au Dr. A. D E V I L L E C H A B R O L L E

Les longues heures de travail passées ensemble m'ont fait apprécier le sérieux de ses connaissances.

Au Dr. J.P. B O U C H O N

Dont je n'oublie pas les leçons de clinique. Leur simplicité est raffinement exemplaire.

A MES MAITRES D' EXTERNAT

Mr le Pr. LOYGUE

Mr le Pr. BARIETY

Mr le Dr. VIGNALOU

Mr le Pr. GARCIN

Mr le Pr. LAROCHE

A MES MAITRES D' INTERNAT

Mr le Pr; CORNET

Mr le Dr. VIGNALOU

Mr le Pr; LHERMITTE

Mr le Pr. GILBERT- DREYFUS

Mr le Pr. BRICAIRE

Mr le Pr. LAROCHE

Nous tenons tout particuliérement ici à remercier

Les Pr. BRICAIRE, GILBERT-DREYFUS, GODEAU, FACQUET, LAROCHE, SIGUIER

Les Pr.Agr.CAQUET, de GENNES, GROSGOGEAT, LUTON, SCHAISON, CAILLE

Les Drs.COUZET, HARPEY, HEREMAN, PEILLON, REINERT, REMI, TURPIN, VAICKE

En nous permettant d'étudier leurs malades, ils ont rendu ce travail possible.

# PLAN

INTRODUCTION

## I - T.M.L. ANIMAL

I - 1 - Description du phénomène
I - 2 - Spécificité immunologique de la réaction
I - 3 - Corrélation avec l'immunité cellulaire
I - 4 - Mécanismes de l'inhibition de la migration
- I - 4 - a - données microscopiques
- I - 4 - b - rôle différent des 2 populations cellulaires
- I - 4 - c - 2 mécanismes fondamentaux
  - I - 4 - c - $\alpha$ - complexe antigène-anticorps
  - I - 4 - c - $\beta$ - secrétion d'un produit lymphocytaire

I - 5 - Le M.I.F.
- I - 5 - a - premières données
- I - 5 - b - données ultérieures
  - I - 5 - b - $\alpha$ - caractères physico-chimiques
  - I - 5 - b - $\beta$ : rôle biologique

I - 6 - Les autres lymphokines
- I - 6 - a - facteur réactif cutané
- I - 6 - b - facteur mitogène
- I - 6 - c - facteur lymphotoxique

## II - T.M.L.CHEZ L'HOMME

II - A - Données générales - Techniques
- II - A - 1 - Utilisation de broyats d'organes
- II - A - 2 - Tests en 2 temps

II - A - 2 - a - données générales
II - A - 2 - b - les lymphokines chez l'homme
II - A - 2 - b - 1 - le M.I.F.
II - A - 2 - b - 1 - α - données de la littérature
II - A - 2 - b - 1 - β - données personnelles
II - A - 2 - b - 2 - le facteur mitogène
II - A - 2 - b - 3 - le facteur lymphotoxique
II - A - 2 - c - Conclusion - Tableaux
II - A - 3 - Tests en 1 temps
II - A - 3 - a - données de la littérature
II - A - 3 - b - données personnelles
II - A - 3 - b - 1 - recueil du sang
II - A - 3 - b - 2 - purification
II - A - 3 - b - 3 - mise en tube capillaire
II - A - 3 - b - 4 - mise en chambre de migration
II - A - 3 - b - 5 - lecture des résultats
II - A - 3 - b - 6 - aspect microscopique de la migration
II - A - 3 - b - 7 - fiabilité du test
II - A - 3 - c - Conclusion

II - B - RESULTATS DANS QUELQUES MALADIES HUMAINES
II - B - 1 - Affections endocriniennes
II - B - 1 - a - Thyroïde
II - B - 1 - a - 1 - Rôle des anticorps

II - B - 1 - a - 2 - Rôle de l'immunité cellulaire
II - B - 1 - a - 3 - Données personnelles
II - B - 1 - a - 3 - 1 - Matériel et méthodes
II - B - 1 - a - 3 - 2 - Résultats
II - B - 1 - a - 4 - Discussion

II - B - 1 - b - Surrénale
II - B - 1 - b - 1 - Données de la littérature
II - B - 1 - b - 2 - Données personnelles
II - B - 1 - b - 3 - Discussion

II - B - 1 - c - Parathyroïdes
II - B - 1 - c - 1 - Données de la littérature
II - B - 1 - c - 2 - Données personnelles
II - B - 1 - c - 3 - Conclusion

II - B - 1 - d - Hypophyse

II - B - 2 - Anémie de Biermer
II - B - 2 - a - Données de la littérature
II - B - 2 - b - Données personnelles
II - B - 2 - c - Discussion

II - B - 3 - Lupus et syndrômes lupoïdes
II - B - 3 - 1 - Données de la littérature
II - B - 3 - 2 - Données personnelles
II - B - 3 - 2 - a - Matériel - Méthodes
II - B - 3 - 2 - b - L.E.A.D.
II - B - 3 - 2 - c - Syndrômes lupiques iatrogènes
II - B - 3 - 2 - d - Collagénoses diverses
II - B - 3 - 3 - Conclusions

II - B - 4 - Applications diverses

II - B - 4 - 1 - Maladies virales - Données personnelles

II - B - 4 - 1 - 1 - Sujets normaux

II - B - 4 - 1 - 2 - Maladie de Van Bogaert

II - B - 4 - 2 - Immunologie rénale - Transplantations

II - B - 4 - 3 - Autres applications

CONCLUSIONS

BIBLIOGRAPHIE

La multiplicité des techniques dont l'on dispose pour étudier l'immunité humorale est un reflet significatif des connaissances acquises. Il n'en va pas de même pour l'immunité cellulaire. On ne l'individualisa longtemps que par opposition à l'immunité humorale. L'absence d'anticorps circulants, l'existence d'une réaction cutanée caractéristique et retardée en furent longtemps les seuls moyens d'approche connus.

Récemment, pourtant, plusieurs tests d'étude in vitro ont été proposés. Ils portent essentiellement sur le petit lymphocyte. L'on sait, en effet, que certains d'entre eux sont responsables de l'immunité cellulaire. Il s'agit d es T-Lymphocytes, individualisés pendant la période périnatale soit par passage intra-thymique de lymphocytes médullaires, soit par secrétion d'un facteur thymique allant "orienter" dans la circulation certains des lymphocytes qui s'y trouvent, soit de thymocytes élaborés directement dans le thymus. La part respective des ces 3 voies n'est pas actuellement déterminée, mais il est certain qu'après l'involution thymique, ces cellules persistent dans la circulation, qu'il s'agisse de cellules-mémoire ou de cellules non encore sensibilisées à un antigène. On les rencontre dans les aires para-corticales des ganglions et au niveau des sinus périartériolaires de la rate, ainsi que dans le sang circulant ou, chez les mamminfères, 60 à 70% des lymphocytes recirculants sont thymo-dépendants. Ces notions, acquises à partir des travaux de MILLER (159) et de GOOD (160), restent encore actuellement parfaitement valables. La thymectomie néo-natale, à condition qu'elle soit effectuée dans les 36h suivant la naissance, s'accompagne d'un dépeuplement des aires thymo-dépendantes des organes lymphoïdes, avec lymphopénie extrême dans le sang circulant. Puis se développe un syndrome de rabougrissement ("wasting disease") aboutissant à la mort de l'animal si l'on ne pratique

pas de greffe thymique. Ces notions se sont vues appuyées par la découverte d'une souche de souris ou un déficit génétique, lié au sexe et rencontré seulement chez le mâle, associe une aplasie thymique congénitale et une absence de poils. Aussi, PANTELOURIS (176) appela-t-il cette souche (56) "Nude", les homozygotes étant Na-Nu. Des études ultérieures ont en outre permis de montrer que les lymphocytes circulants des souris normales, injectés à un lapin, entraînaient la formation d'un sérum anti-lymphocyte qui ne réagissait en immunofluorescence qu'avec les lymphocytes thymo-dépendants (184). Les lymphocytes des souris Nu-Nu ne réagissent pas avec cet anti-sérum (185). Il est donc probable que les lymphocytes thymo-dépendants sont porteurs d'un antigène membranaire particulier, sceau de la thymo-dépendance, appelé l'antigène $\theta$ (202).

Ces lymphocytes sont responsables de l'immunité cellulaire. Outre l'hypersensibilité dite "retardée", ceci comporte le rejet des greffes allogéniques (242). L'étude de l'immunité de transplantation a d'ailleurs fait faire de très grands progrès à la connaissance du rôle des lymphocytes dans l'immunité.

L'on connaît actuellement 2 catégories de tests d'étude in vitro de l'immunité cellulaire chez l'homme. Tous présupposent l'existence de cellules mémoire ou de cellules réactives à l'antigène dans le sang circulant.

- les uns explorent la liaison antigène-lymphocytes. Il s'agit du test des rosettes, de l'électrophorèse des lymphocytes et des réactions directes antigène-lymphocyte soit par passage sur colonne contenant l'antigène, soit avec un antigène marqué par un isotope. Par

ces techniques, l'on a pu démontrer chez l'animal l'existence, à la surface du lymphocyte, d'une immunoglobuline complète ou d'un fragment F (ab')2, spécifique de l'antigène. Elle est secrétée par le lymphocyte. Le blocage de ce fragment par des anti-sérums anti-chaînes K inhibe la réaction à l'antigène (60)(91).

Le problème est ici de savoir si on a affaire à des lymphocytes thymo ou médullo-dépendants ; seule, une comparaison avec des tests plus spécifiques d'immunité cellulaire permet de le dire.

- les autres explorent les conséquences de la réaction antigène-lymphocyte. Le premier est utilisé depuis de nombreuses années. Il s'agit du test de transformation lymphoblastique (T.T.L.).

Le second est d'étude beaucoup plus récente chez l'homme. Il est diversement dénommé suivant les auteurs et les variantes techniques utilisées: test d'inhibition de la migration des macrophages (I.M.M.), lorsqu'il s'agit d'expérimentations animales; test d'inhibition de la migration des leucocytes (T.M.L.), lorsqu'on étudie les cellules blanches circulantes humaines.

*
* *

# I_T. M. L. ANIMAL

## 1° DESCRIPTION DU PHENOMENE

Les premières expériences étudiant l'effet d'un conflit antigène-lymphocyte sur la migration des fibroblastes ou des macrophages péritonéaux sont dues à RICH et LEWIS en 1932 . C'est en 1962 que GEORGE et VAUGHAN reprirent ce type d'expérimentation. Après avoir immunisé des cobayes à la tuberculine PPD, ils purent démontrer que leurs cellules d'exsudat péritonéal (artificiellement provoqué par l'injection d'huile légère stérile) placées en tube capillaire et mises en présence de l'antigène, voyaient leur migration inhibée (78).

Si l'animal le plus utilisé est le cobaye, la souris (74), le lapin (42) le rat(19)(65), le hamster, le singe (52), les bovins et les porcins (1) ont également été utilisés.

Chez l'homme, comme nous le verrons plus loin, divers essais ont eu lieu. Il est clair que les études expérimentales les plus poussées ont jusqu'à présent intéressé les animaux d'expérience classiques.

Les principaux schémas expérimentaux peuvent se répartir en 3 thémes :

- Test en 1 temps où sont mélangées 2 populations cellulaires : macrophages et monocytes, avec ou sans polynucléaires.

- Mélange de lymphocytes sensibilisés à des macrophages péritonéaux normaux.

- Test en 2 temps : les lymphocytes sensibilisés sont cultivés en présence d'antigène, et le surnageant mis en présence de cellules péritonéales normales.

La technique la plus courante nécessite la créaction d'un exsudat

péritonéal provoqué par l'injection d'huile minérale légère. (DAVID : assay for M.I.F. unpublished). Le cobaye et la souris sont les animaux de choix. Le rat semble d'utilisation difficile, car l'on obtient chez lui que peu de cellules (BROCKMANN). Il est nécessaire que les animaux utilisés soient inbred si l'on mélange les produits d'exsudat péritonéal de plusieurs animaux car des inhibitions réciproques d'intensité variable se produisent en fonction des antigènes d'histocompatibilité (FALK)(29) (BROCKMANN)(65)

2° SPECIFICITE IMMUNOLOGIQUE DE LA REACTION

Dès 1963, CARPENTER (37)(38) puis DAVID et Coll. (47)(48)(49) à partir de 1964, établissaient que cette réaction était spécifique de l'antigène utilisé pour l'immunisation de l'animal.

La migration des cellules d'exsudat péritonéal d'un cobaye immunisé à l'ovalbumine n'était pas inhibée par de la γ globuline bovine. De même, l'utilisation des dérivés protéiques pierylés (CARPENTER) ou d'une combinaison DNP-BGG (dinitrophényl + γ globuline bovine) ou DNP-BSA (dinitrophényl + sérum albumine bovine) n'entraîne pas de réaction croisée entre ces 2 antigènes. Les cellules se composent alors comme si elles ne reconnaissaient pas les haptènes. Seul l'antigène spécifique complet est capable d'induire la réaction. Peut-être faut-il admettre avec ZABRISKIE et FALK (247) la nécessité d'obtenir l'antigène sous forme particulée afin d'avoir une inhibition de migration. Ceci est en fait discutable, car le DNP-BGG utilisé par DAVID était parfaitement soluble. Il en est de même pour les antigènes d'histocompatibilité de la souris. L'on ne peut d'ailleurs obtenir d'emblée une inhibition de la migration des lymphocytes par un

antigène d'histocompatibilité ou un broyat de lymphocytes autologues si l'animal n'a pas été préalablement immunisé par greffe ou injection intrapéritonéale de l'antigène ( 3 ).

3° CORRELATION AVEC L'IMMUNITE CELLULAIRE

Les anticorps n'interviennent pas dans la réaction.

Si, au lieu d'adjuvant complet de Freund, l'on utilise de l'adjuvant incomplet, l'on obtient certes des titres élevés d'anticorps mais aucune inhibition de la migration des cellules péritonéales.

L'on n'obtient pas davantage d'inhibition en utilisant à la place des cellules d'exsudat péritonéal, les cellules spléniques formant des plaques d'hémolyse dans la technique de JERNE et donc productrices d'anticorps. En fait, l'utilisation de cellules spléniques est possible dans le test de migration ; il est cependant nécessaire que l'antigène alors utilisé donne essentiellement une réponse d'immunité cellulaire (FALK). (65)

L'essai de sensibilisation de cellules d'exsudat péritonéal provenant d'un animal non immunisé avec des sérums contenant des titres élevés d'anticorps précipitants anti ovalbumine, ainsi qu'avec des sérums provenant d'animaux présentant des réactions d'hypersensibilité retardée contre l'ovalbumine, la toxine diphtérique, la tuberculine, n'entraîne aucune inhibition de migration. Plusieurs des sérums utilisés par DAVID contenaient des titres élevés d'anticorps cytophiles. Cependant, les données obtenues par cet auteur ne peuvent plus actuellement être considérées comme définitives. Nous y reviendrons.

La création d'un phénomène d'Arthus, témoin d'une réaction antigène anticorps, n'a aucune coïncidence dans le temps avec le moment où apparaît une inhibition de la migration des cellules péritonéales

(FERRARESI) (70), qui survient plus tôt et dure plus longtemps que la possibilité de déclencher une réaction cutanée type Arthus .

- La démonstration directe du parallélisme avec les réactions cutanées d'hypersensibilité retardée fut également apportée par DAVID (53). Chez le cobaye, il existe une corrélation étroite entre l'apparition des réactions cutanées de type hypersensibilité retardée et la mise en évidence d'une réaction d'inhibition de la migration des macrophages péritonéaux. Surtout, plus la réaction cutanée est intense, plus l'inhibition de la migration est marquée (157)

D'autres auteurs (RICCI and Coll - 193) chez le cobaye immunisé avec de l'adjuvant complet, confirment cette dernière donnée, mais pensent que l'apparition de l'inhibition de migration est retardée de 48 h par rapport à la positivition des tests cutanés, le test de transformation lymphoblastique se positivant le premier.

FERRARESI (70) montre que la première positivité cutanée apparaît au 4è jour chez le cobaye sensibilisé avec des IgG humaines ou de la tuberculine brute, l'inhibition de migration au 6è jour. Là aussi, existe un parallélisme net entre l'intensité de l'inhibition et l'intensité de la réaction cutanée.

LOLEKHA, DRAY et GOTOFF (142), après immunisation de cobayes, avec une tuberculine PPD, obtiennent des résultats identiques. Pour eux, seules les cellules d'exsudat péritonéal manifestent une inhibtion de migration en présence de l'antigène. Les cellules blanches du sang circulant, les cellules ganglionnaires spléniques en présence de l'antigène subissent une

transformation lymphoblastique attestée par une captation accrue de $^{3}$H-Thymidine, mais leur migration n'est pas inhibée.

Cependant, pour BARTFELDT, ATOYNATAN et KELLY ( 8 ), les lymphocytes du sang circulant de cobayes immunisés à la PPD peuvent réagir in vitro, et le surnageant de cette culture peut inhiber la migration de macrophages alvéolaires de cobayes non immunisés. D'autres auteurs ( 87) (245)ont également utilisé avec succès des lymphocytes spléniques et ganglionnaires comme cellules médiatrices dans ce test.

La prééxposition in vitro des cellules d'exsudat péritonéal à l'antigène, ou son injection intra-péritonéale avant la mise en tube capillaire font disparaître l'inhibition de la migration (137). En cas d'immunisation double, et d'exposition à l'un des deux antigènes, les cellules lymphomonocytaires péritonéales ne sont inhibées ultérieurement par aucun des deux antigènes. Il est probable que ceci vient de la disparition quasi-totale des macrophages péritonéaux après injection de l'antigène (244) (20) Si l'injection est faite par voie veineuse à un cobaye ne présentant que des réactions d'hypersensibilité retardée, l'on provoque une chute très brutale des monocytes circulants, suivie 24h plus tard d'une remontée importante. C'est probablement cette disparition des cellules monocytaires ou macrophagiques, cellules migrantes, cellules cible, cellules indicatrices donc, qui permet d'expliquer le paradoxe apparent de la disparition de la sensibilisation "in vitro" à deux antigènes alors que les cellules n'ont été préexposées qu'à l'un d'entre eux.

## 4° MECANISME DE L"INHIBITION DE LA MIGRATION

### a) Données microscopiques

Les cellules d'exsudat péritonéaux contiennent (en proportions

variables suivant les techniques d'obtention) des macrophages (60 à 80%), des lymphocytes (10 à 25%) et quelques polynucléaires. Mises en tubes capillaires et placées dans un milieu de culture ne contenant pas l'antigène, ces cellules migrent indépendamment les unes des autres.Cependant, de petits agrégats de 3 à 10 cellules peuvent se voir. Les macrophages périphériques ayant migré présentent de nombreux pseudopodes, et sont ainsi que les lymphocytes des cellules viables (test d'exclusion du bleu trypan). Par contre, si l'antigène est ajouté au milieu de culture, l'on observe de volumineux agrégats cellulaires de 50 à 300 cellules, essentiellement formées de macrophages au sein desquels se rencontrant quelques lymphocytes. (88)(200).

Les agrégats peuvent être moins importants (201) par paires macrophages-lymphocytes, ou groupes de macrophages seuls.Cependant, lorsqu'on utilise une suspension pratiquement pure de macrophages (95%) telle qu'on peut l'obtenir par lavage bronchique au Hanks chez le cobaye (8) et que l'on met en présence de ces cellules placées en tube capillaire, le surnageant acellulaire d'une culture pure de lymphocytes sensibilisés en présence de l'antigène, l'agrégat observé est évidemment purement macrophagique, selon COLLIER (45).

Ces cellules ne semblent pas utilisables directement pour une étude en microscopie électronique; elles présentent, en effet, de nombreuses vacuoles cytoplasmiques, provoquées entre autres par l'injection intrapéritonéale d'huile de paraffine, et que l'on rencontre aussi bien dans les lymphocytes que dans les macrophages. Aussi a-t-il utilisé une technique différente : agglutination des cellules par la thrombine, découpage du caillot ainsi obtenu en tranches de 2 mm d'épaisseur que l'on place ensuite pour migration dans les chambres de culture. Utilisant comme antigène la

PPD, ils ont pu observer que le nombre des microvilli des macrophages exposés à l'antigène était significativement plus important qu'en l'absence d'antigène. De même, en présence de PPD, se forment des cellules géantes composées de 3 macrophages ou plus. Les lymphocytes présents ont une taille augmentée (11 à 20 $\mu$) et contiennent des polyribosomes et des segments de réticulum endoplasmique rugueux. Rien ne les différencie cependant fondamentalement des lymphocytes n'ayant pas rencontré l'antigène. (162)

Ainsi, le phénomène fondamental semble l'agrégation des cellules à activité macrophagique (201). L'histologie ne permet pas de conclusions quant au rôle du lymphocyte.

b) Il est en tous cas probable que chaque population cellulaire a un rôle différent. Si aux cellules d'exsudat péritonéal prélevées sur un animal non sensibilisé l'on ajoute les lymphocytes d'un animal immunisé à la streptokinase-streptodornase ou à la coccidioïdine dans la proportion de 1 lymphocyte immun pour 10 cellules non sensibilisées, l'on obtient un effet identique à ce que l'on observe avec les cellules d'un animal immunisé avant toute séparation. Une technique d'isolement en gradient de centrifugation par le polysucrose (FICOLL)(248) permet de séparer totalement macrophages et lymphocytes. De cette manière, l'on démontre qu'il suffit d'1 lymphocyte sensibilisé pour induire en présence de l'antigène l'aggrégation de 10 à 30 macrophages normaux. Le macrophage est donc la cellule cible, impliquant d'abord la réaction antigène-lymphocytes sensibilisés.

c) Il semble exister 2 mécanismes fondamentaux conduisant à l'inhibition de migration.

- le premier est le résultat d'un conflit antigène-anticorps sur le macrophage, cellule-cible non immune.

L'on a pu démontrer ( 24 ) que des complexes GR - RhO-anticorps anti Rh inhibent la migration d'exsudats péritonéaux d'animaux normaux. Un système KLH (Keyhole Limplet hémocyanine)-anticorps anti KLH a le même effet. HEISE et Coll. ( 97 ), incubant des macrophages alvéolaires normaux avec le sérum d'un animal immunisé à la PPD ou au brucellergène, obtiennent de ce seul fait une diminution de la migration. Cependant, l'inhibition ne devient vraiment marquée que si l'on rajoute au sérum, avant d'y incuber les macrophages, l'antigène spécifique des anticorps présents dans le sérum. Lorsque l'on fractionne sur Séphadex G200 le sérum de ces animaux, seul le pic globulinique a une activité inhibitrice; en immunoélectrophorèse, il se caractérise comme une Ig G, ou une $\gamma 2$ chez la souris. L'on sait, d'autre part (100)(101)(138) qu'il existe à la surface des macrophages des récepteurs spécifiques de certaines Ig. L'inhibtion ne nécessite pas la présence du C', et aboutit dans le système GR-R-Rho-AC anti Rho à une érythrophagocytose. Lorsque l'anticorps est de nature IgM par contre, le C' semble indispensable pour qu'apparaisse une inhibition (215)

Depuis DAVID (60) l'on sait que la trypsine à la dose de 1 à 10 mg/ml fait disparaître la réaction d'inhibition. Cette substance empêche la réaction de se produire si l'on ajoute à des macrophages péritonéaux normaux trypsinés des cellules venant d'un animal sensibilisé. Cette action est réversible en 24h. Pour HEISE et Coll. ( 97 ) cette action s'exerce aussi sur les maxrophages alvéolaires normaux avant toute incubation avec le sérum d'un animal sensibilisé.

Il est donc probable que la trypsine agit en faisant disparaître temporairement de la membrane de macrophage le site récepteur spécifique de certaines immunoglobines. Ainsi, par ce mécanisme, le test d'inhibition

de migration peut-il se rapprocher d'une réaction d'immunocytoadhérence où le premier temps est une réaction antigène-anticorps fixé sur le macrophage, ce qui entraîne par un mécanisme peu clair l'aggrégation des macrophages. Le lymphocyte n'intervient pas.

- le second type de réaction nécessite la présence active du lymphocyte. Plusieurs arguments expérimentaux ont pu être obtenus.

1°- action de l'ouabaïne : cette substance connue pour bloquer la Na-K-ATPase empêche la transformation lymphoblastique (182) à des doses de 1,7 et $10^{-7}$ M/ml. Le ClK, à une concentration de 4mg/ml, lève cet effet. Dans les réactions d'inhibition de migration, WARD et Coll. (234) utilisant comme antigène des extraits d'E. Coli lèvent l'inhibition par adjonction d'ouabaïne. Si cette substance semble agir sur les lymphocytes, puisque dans le test de transformation lymphoblastique les macrophages n'interviennent pas, l'on ne sait pas à quel moment de la réaction elle intervient. L'on n'a actuellement pas de données expérimentales concernant une éventuelle intervention de l'adényl-cyclase membranaire et du 3' -5' AMP cyclique dans le T.M.L. bien que son rôle ait été étudié dans le test de transformation lymphoblastique.

2°- Rôle de l'ARN lymphocytaire : DAVID (52) a étudié l'effet de la Puromycine (qui entraîne un lâchage prématuré par les ribosomes de peptides partiellement formés) du chloramphénicol (agissant sur la synthèse des ribosomes) et de l'actinomycine D (bloquant la synthèse de l'ARN-DNA dépendante). Il note que la Puromycine, mais surtout l'actinomycine D ont une action neutralisante à des doses de l'ordre de 10 $\mu$ g/ml, ce qui signifie l'intervention d'un ARN nouvellement formé pour que se produise l'inhibition. Cet ARN nouvellement formé est également spécifique d'antigène.

JUREZIZ, THOR et DRAY (112 )(115 ) ont pu le démontrer. Dans un premier temps, ils pratiquent une extraction phénolique à chaud de l'ARN de lymphocytes ganglionnaires et spléniques de cobayes sensibilisés soit à la PPD, soit à la coccidioïdine, et de cobayes normaux. Ces différents ARN sont incubés 10 à 15 minutes avec des cellules d'exsudats péritonéaux provenant de cobayes normaux. Les cellules péritonéales sont ensuite placées en tube capillaire et mises en présence des différents antigènes.. Seules, les cellules péritonéales inbubées avec l'ARN provenant des lymphocytes de cobayes immunisés à la coccidioïdine ont une diminution de leur index de migration; la PPD est sans effet sur eux(222)(223)

Cet ARN est différent du facteur de transfert de LAWRENCE et s'oppose à lui par 2 caractères fondamentaux : il est non dyalisable et détruit par la ribonucléase. Ceci le rapproche par contre bien plus de l'ARN capable de créer un étant d'immunité de greffe provoquant une réaction de second set lors d'une première greffe chez le lapin (21 ) ou la souris ( 3 ), ou de transmettre à des lymphocytes non immuns un pouvoir cytotoxique immunologiquement spécifique.( ).

Cet ARN n'est pas en lui même facteur d'inhibition, puisque placé en tube capillaire en présence de cellules péritonéales normales, il n'entraîne pas l'agglutination des macrophages ; il n'est pas spécifisque d'espèce, puisque l'ARN d'un singe immunisé à la PPD transmet cette réaction d'immunité cellulaire aux cellules d'un cobaye normal (177). Bien que l'on ne sache pas avec certitude quel type d'ARN est ainsi impliqué, le rôle suppresseur prédominant de l'actiomycine D permet de supposer qu'il s'agit d'un ARN-m. De toutes façons, il est actuellement démontré que cet ARN est

à l'origine d'une synthèse polypeptidique qui aboutit à la secrétion par le lymphocyte d'un facteur soluble. Ce polypeptide n'est pas; comme nous le verrons plus loin, une immunoglobine, ce qui permet donc de mieux affirmer la différence entre les réactions d'hypersensibilité retardée et les réactions d'immunité humorale où l'on a démontré que l'ARN immun induisait des cellules lymphoïdes normales à synthétiser des immunoglobulines.

5° ROLE D'UN FACTEUR SOLUBLE SECRETE PAR LE LYMPHOCYTE : le M.I.F.

a) BLOOM et BENNET (25) (26), DAVID (54) ainsi que SVESCAR et JOHANOVSKI (219)(220)(221) parvinrent à le démontrer. Si l'on cultive in vitro les cellules d'exsudat péritonéal d'un animal immunisé à la PPD, ayant donc uniquement une réponse immunitaire de type cellulaire et si l'on recueille à la 24è heure le surnageant de ces cultures et qu'on le met en présence des cellules péritonéales d'un animal normal, l'on obtient une inhibition. Il est libéré dès la 6è heure de mise en culture avec un maximum vers la 48è h. On le retrouve de façon continue pendant 5 jours. Il ne s'agit pas d'un matériel déjà présent dans la cellule, mais d'une synthèse de novo, bloquée par l'actinomycine D, et déclenchée uniquement par l'antigène responsable de la réponse d'hypersensibilité retardée. HALPERN (93) obtenait un résultat similaire avec des broyats ganglionnaires d'animaux sensibilisés à la $\gamma$globuline bovine et aux globules rouges de mouton.

b) depuis la mise en évidence de ce facteur soluble, de nombreux auteurs ont démontré son existence chez l'animal. (97)(4)(189)(190)(221)(129).

- caractérisation physico-chimique ; il s'agit d'une

substance non dialysable (190) qui n'est pas une immunoglobuline. Ce n'est pas, en particulier chez le cobaye ( 4 ) une molécule d'anticorps cytophile $\gamma_2$. Cependant, HEISE (97) après passage sur Séphadex G200 et immunoélectrophorèse signale qu'une des fractions inhibantes est une $\gamma_2$.

Pour SCHWARTZ (204), après incubation des lymphocytes normaux avec de la concanavaline A (substance dérivée de la phytohémagglutinine) l'on obtient également du M.I.F.. Il s'élue après passage sur Séphadex avec une fraction 19S, représentant un mélange dissociable de MIF et de concanavaline, mais surtout dans la fraction 5S où on le trouve isolé. Ces données concordent avec les résultats obtenus par DUMONDE (58) qui, sur Séphadex G100, retrouve l'activité MIF dans la fraction albuminique de l'éluat. REMOLD et DAVID (183) chez des cobayes immunisés à l'ortho-chloryl $\gamma$-globuline bovine trouvent également l'activité MIF dans la fraction albuminique après Séphadex G100. Cependant, l'électrophorèse en disque de polyacrylamide à pH 9,1 leur a montré qu'il s'agissait d'une protéine de migration anodique, mais non albuminique. Dans des conditions d'immunisation analogues, ces auteurs (190) font disparaître l'action MIF par la chymotrypsine et la Neuraminidase. Ceci leur permet de dire qu'il s'agit probablement d'une glycoprotéine ne contenant de faibles quantités d'acide sialique. Pour AMOS et LACHMANN ( 4 ), l'activité MIF localisée dans la fraction albuminique après Séphadex G100, se dissocie de l'albumine après adjonction de latex au niveau duquel on retrouve l'activité biologique initiale. Il s'agit d'une substance stable plusieurs jours à + 4°C, voire à -20°C (95) (190) ainsi qu'à température ordinaire, mais le chauffage à 100°C le détruit en quelques minutes (97). Il n'est pas spécifique d'espèce (221), le MIF de cobaye inhibant les macrophages de souris.

- Rôle biologique

L'on ne connaît donc pas actuellement la nature biochimique précise de cette substance. Cependant, son rôle biologique a été confirmé. Lors du développement d'une réaction d'immunité cellulaire, la zone paracorticale des ganglions subit une distension importante, avec formation d'agrégats cellulaires épais. DUMONDE et Coll. (122) notent que l'injection intra-ganglionnaire de MIF purifié à un animal neuf aboutit à une distension identique des aires paracorticales. Lorsqu'on immunise un animal neuf avec un antigène provoquant une réaction d'immunité cellulaire, l'on trouve le MIF dans la lymphe quittant le ganglion de drainage.

La secrétion de MIF peut être mise en évidence dès le 6è jour de l'immunisation (97)(193)(167) pendant une durée variable, de plusieurs mois pour certains auteurs (193), de quelques semaines pour d'autres (167). Ceci semble dépendre de l'intensité de l'immunisation.

Lorsqu'on incube le MIF avec des macrophages, ils se transforment en 48h en grandes cellules Amoeboïdes (2). Leurs lysosomes augmentant de volume, et leur contenu en phosphatases acides s'élève (162). Il n'y a pas de différance sur ce point entre les macrophages péritonéaux et les macrophages alvéolaires dont la migration spontanée est cependant plus importante (181). Les cellules monocytaires de la leucose à monocytes du rat Wistar réagissent de la même façon (67). Les lymphocytes normaux éventuellement présents se modifient aussi : leur migration diminue, ainsi que le nombre de leurs pseudopodes et filapodes (162); ils tendent à s'associer aux macrophages.

Le MIF-ou plutôt, tant qu'il ne sera pas définitivement identifié,

L'"activité MIF"4 appartient en fait à une catégorie plus vaste de substances secrétées par le lymphocyte après contact avec l'antigène spécifique. Ces substances, médiateurs non immunoglobulines de l'immunité cellulaire, ont été appelées par DUMONDE (58) les "lymphokines".

6° LES LYMPHOKINES

a) La substance la plus proche du MIF a une activité cutanée. Elle semble relachée en même temps que le MIF. Injectée dans la peau d'un animal normal, sansqu'il y ait une spécificité d'espèce étroite (180), elle provoque à la 6è-10è heure l'apparition d'un infiltrat inflammatoire fait de polynucléaires et de monocytes, mawimum à la 24è h et s'effaçant en 48 h (128)(129). Il s'agit d'une réaction d'hypersensibilité retardée, que l'on peut rapprècher de notions plus anciennes. GELL et BENACERRAF (77)désensibilisant par voie intra-veineuse des cobayes sensibilisés à la tuberculine, observèrent l'apparition, 3 à 6h plus tard, d'un rash macule-papuleux localisé au premier point de pénétration de l'antigène. Pour DUMONDE (57), cette substance créant une inflammation cutanée s'élue en Séphadex G100 avec les albumines. Pour PICK (180) en Séphadex G200, c'est une $\alpha$2 globuline, que l'immunoélectrophorèse localise comme une glycoprotéine de migration lente inter $\alpha$2- $\gamma$ , qui n'est ni une $\alpha$2 Macroglobuline, ni une IgM ni une $\beta$1C. La PHA comme l'antigène spécifique provoquent son élaboration.

Le phénomènes biologique le plus précoce, 1h après l'injection intra-dermique est l'augmentation de la perméabilité vasculaire, démontrée par l'injection intra-veineuse d'albumine marquée à l'iode 125 (58).

Pour KRECJI (128) cette action serait superposable à celle que provoque le LNPF (Lymph Node Permeability Factor).

b) Le facteur mitogène est connu depuis 1965 (86)(120). Dans les cultures mixtes de lymphocytes, le surnageant acellulaire contient un facteur thermostable chez le cobaye (217) qui induit la transformation lymphoblastique de lymphocytes non immunologiquement connus. Il ne semble pas spécifique d'espèce (121), stimulant en tout cas beaucoup plus l'incorporation de 3H-Thymidine dans les cellules allogéniques que dans les cellules autologues (129)(155). Pour certains (243) il ne s'agit d'un antigène de transplantation. Pour d'autres, ce type de stimulation peut difficilement s'expliquer en dehors de la libération dans le milieu d'antigène $H_2$ (90).

c) le facteur lymphotoxique (L.T.F.) semble mieux individualisé. Le surnageant acellulaire d'une culture mixte de lymphocytes, ou de lymphocytes en présence de PHA, ou de lymphocytes en présence d'un antigène spécifique, exerce une action toxique sur des cellules allogéniques. Cette cytolyse se mesure sur culture monocouche de fibroblastes autologues ou allogéniques, ou de cellules He-La ou L de souris, après incorporation de $^{51}Cr$. On compte la libération d'isotope dans le milieu, ce qui témoigne de lésions membranaires. Il semble que toutes les souches cellulaires ne soient pas également sensibles à l'action de ce facteur lymphotoxique (241). Il s'agit très probablement par action membranaire direct : le fluorure de sodium empêche l'action lytique du L.T.F. (146) ainsi qu'un certain nombre de polyanions (249). Une telle constatation peut signifier que les substances en questions bloquent le LTF et non son site d'action membranaire. En fait, l'on peut

arguer de ce que le blocage de l'ADN et de l'ARN de la cellule cible n'empêche pas la lyse (140). C'est un facteur non dyalisable (136) précipité par $SO_4$ $(NH_4)_2$ à 40% de saturation (90) et qui semble thermolabile, détruit par un chauffage de 56°C 30 minutes.

L'on en rapproche un facteur inhibant la croissance cellulaire, qui diminue l'incorporation d' ADN dans les cellules en culture sans entraîner leur lyse (147). Ce"Growth Inhibitory Factor " (G.I.F.) est lui aussi thermolabile et non dialysable. Il est probable qu'il s'agit d'une LTF à concentration insuffisante pour entraîner une cytolyse.

# LE T.M.L. CHEZ L'HOMME

## A - DONNEES GENERALES - TECHNIQUES

### 1- Utilisation de broyats d'organes lymphoïdes

Pour THOR et DRAY (225), l'impossibilité d'obtenir dans le sang circulant une population migrante proche des macrophages péritonéaux du cobaye nécessitait le recours à ce type cellulaire. Cette technique nécessitait une biopsie ganglionnaire, puis, après le broyage, une mise en culture de 72 h dans du milieu 199, contenant 10% de sérum de veau et 10% de sérum du malade. En effet, les cellules ganglionnaires ne peuvent migrer, selon ces auteurs, qu'au bout de cette période. Placées alors en tube capillaire siliconé, les cellules migraient pendant 36h dans des chambres de culture stériles. Trois des chambres ne contenaient que du milieu de culture; Les autres contenaient du milieu de culture et l'antigène : histoplasmine et PPD (225) en concentrations variables. Etudiés en même temps que les tests cutanés à ces antigènes, les index de migration calculés de façon habituelle (projection puis planimétrie ou pesée des surfaces) ont montré une bonne corrélation. En présence de PPD (10µg/ml) les 12 sujets ayant une réaction cutanée négative avaient un I.M. de 102 ± 11, alors que 15 sujets à cuti positive avaient un I.M. de 25± 8. Avec l'histoplasmine (30 µg/ml) les 9 sujets ayant un test cutané positif présentaient un M.I. de 22 ± 7, les 18 sujets sans réaction cutanée ayant un M.I. de 103 ± 12. Ce test était donc fidèle quant à l'étude de l'immunité cellulaire humaine. Les cellules migrantes étaient ici représentées par des moyens et des grands lymphocytes, représentant au bout de 72 h de

culture 25 à 50% du total des cellules. Leur activité phagocytaire était démontrée par leur aptitude à phagocyter le latex, 2 à 10% seulement des cellules avaient la morphologie des macrophages de cobaye, chez lequel 50% de macrophages sont nécessaires pour obtenir une migration satisfaisante.

SVESCAR obtenait des résultats superposables avec une technique similaire, employant des fragments spléniques, il démontrait que, chez l'homme, ces cellules étaient également utilisables (219)(220). Cependant, ces méthodes ont deux inconvénients majeurs qui en limitent considérablement l'utilisation : la nécessité de la biopsie ganglionnaire, ou splénique, et une mise en culture de 3 jours avant d'obtenir une population cellulaire migrante.

Au cours de leurs études, ils signalaient (224) que le surnageant acellulaire des cellules blanches contenait une substance qui inhibait la migration des cellules humaines non sensibilisées en culture, laissant présager la libération dans le milieu d'une substance proche du M.I.F. libérée par les lymphocytes sous l'effet du contact avec l'antigène spécifique.

2- TESTS EN DEUX TEMPS

a) Données générales

ROCKLIN et Coll. (194)(195) pratiquent un test assez proche à partir du sang veineux. Après prélèvement stérile sur héparine de 50 à 60 ml, le sang est mélangé à du Dextran ; on le laisse sédimenter 30 minutes à 37°C. Le plasma surnageant riche en cellules blanches est ensuite mélangé à du milieu 199 puis filtré sur colonne de coton. La préparation

obtenue après centrifugation, lavage et resuspension contient 95 à 98% de lymphocytes que l'on place dans des tubes stériles avec une quantité suffisante de milieu en présence ou non des antigènes à tester. L'incubation dure 3 jours à 37°C ; l'on enlève chaque jour le surnageant acellulaire, que l'on remplace par un milieu de composition strictement identique. Ce surnageant ne doit pas nécessairement être concentré par dialyse. Le test d'inhibition est pratiqué dans un second temps. L'on provoque chez des cobayes normaux un exsudat péritonéal que l'on collecte suivant les techniques habituelles. Ces cellules de cobayes sont lavées et placées , en tube capillaire, dans des chambres de culture. L'on rajoute alors dans chaque chambre soit du milieu de culture, soit le milieu de culture avec l'antigène utilisé dans le premier temps, soit le surnageant acellulaire des cultures de lymphocytes en présence de l'antigène. Il est indispensable de s'assurer que l'antigène en lui-même n'a pas d'effet inhibiteur sur la migration de macrophages péritonéaux de cobaye apparemment normaux. Ce que l'on étudie en effet ici, c'est le résultat de l'action de l'antigène sur les lymphocytes humains, qui se traduit par la secrétion d'un facteur soluble, le M.I.F., libéré dans le milieu de culture. Le calcul de l'index de migration est donc ici un peu plus complexe. Après projection et pesée ou planimétrie des surfaces de migration l'on utilise la formule suivante :

$$\% \text{ de migration} = \frac{X}{Y}$$

avec $X = \dfrac{\text{surface de migration en présence du surnageant avec l'antigène}}{\text{surface de migration en présence de l'antigène}}$

$Y = \dfrac{\text{surface de migration en présence du surnageant sans l'antigène}}{\text{surface de migration en présence du milieu sans antigène}}$

Utilisant comme antigène la PPD (10µg/ml) la streptokinase-streptodornase (SK-SD)(50 unités/ml) et un extrait de candida albicaus (0,01 ml de la solution de départ/me) ces auteurs obtiennent une excellente corrélation avec les tests cutanés pratiqués aux mêmes sujets. Les I.M. obtenus sont cependant nettement supérieurs à ceux qu'avaient observé THOR et DRAY (225), témoignant d'une inhibition moins importante. Les sujets présentant une réaction positive à l'un des antigènes étudiés présentent pour le même antigène un I.M. allant de 0,80 à 0,50 , à quelques exceptions près. Aucun des malades présentant une réaction cutanée négative n'a eu un index inférieur à 0,80 : l'absence de fausses réactions positives est donc un excellent argument en faveur de la qualité de ce test.

En utilisant cette technique, ces auteurs ont démontré que le plasma de sujets présentant une réaction cutanée positive à l'un quelconque de ces antigènes ne transmettait pas aux lymphocytes de sujets anergiques la capacité de secréter du M.I.F. en présence de cet antigène. Cette aptitude ne vient donc pas d'un éventuel complexe antigène-anticorps secondairement fixé sur les lymphocytes (196). Ce test témoigne d'une activité sécrétoire lymphocytaire, indépendante de l'immunité humorale par anticorps. Etudiant de la même façon un certain nombre de sujets présentant un déficit des réactions d'hypersensibilité retardée, (aplasie thymique, candidose muco-cutanée) ces auteurs ont pu démontrer l'absence de secrétion de M.I.F. (195).

VALDIMARSSON et Coll. (228) signalent chez un malade atteint de candidose muco cutanée, la positivité des tests de transformation

lymphoblastique, observée également par ROCKLIN et Coll. et, comme eux, l'absence d'activité inhibitrice du surnageant acellulaire des cultures de lymphocytes du malade en présence de candidine. KIRKPATRICK et Coll. (125) rapportent un fait identique, associé en outre à une rémission temporaire de l'affection après transfusion de lymphocytes, en même temps que la réapparition d'une secrétion de M.I.F. Cependant, cette absence de sécrétion du M.I.F. en présence de candidine ne semble pas confirmée dans tous les cas. Pour GOLDBERG (85), en effet, le test de transformation lymphoblastique est négatif en présence d'extrait de candida albicaus, alors que les lymphocytes du sujet étudié produisent du M.I.F.

LOCKSHIN (140)(141) chez deux patients atteints depuis l'enfance de candidose muco-cutanée a obtenu à la fois une transformation lymphoblastique et un effet inhibiteur lymphocytaire du surnageant de culture en présence de candida albicans et de PPD, malgré la négativité des tests cutanés à ces antigènes. Il faut cependant noter qu'il s'agit d'une identification indirecte du M.I.F. La détermination de l'index de migration témoignant de la présence ou de l'absence d'effet a un rôle capital dans les démontrations expérimentales.apportées. Or, dans les études de LOCKSHIN, un I.M. de 0,90 est considéré comme significatif d'une activité inhibante, ce qui peut être discuté (196). Il n'est malgré tout pas interdit de penser à un déficit sécrétoire localisé à une quelconque des "lymphokines" (M.F., M.I.F.), permettant d'expliquer des déficits partiels de l'immunité cellulaire. L'on ne pourra admettre de tels faits qu'apèrs identification des facteurs en cause.

BARTFELD et Coll. (7) utilisent une technique un peu différente. Si le premier temps comporte toujours une mise en culture

des lymphocytes du sang circulant en présence de l'antigène à étudier, ils se servent comme cellules migrantes au cours du 2è temps de macrophages alvéolaires humains recueillis lors de lavages bronchiques peropératoires. Chez l'animal, les cellules macrophagiques alvéolaires semblent en effet migrer mieux que les macrophages péritonéaux (181).

b) Les lymphokines chez l'homme

C'est par ce test en 2 temps que l'on peut chez l'homme individualiser les diverses lymphokines déjà étudiées chez l'animal.

1- LE MIF

- Données de la littérature: il est, comme chez l'animal, non dyalisable (9 )( 90). Si pour certains, il est stable à 4°C et lyophilisé à -20°C (194)(204)(186) pour d'autres, il perd la moitié de son activité chaque jour à +4°C, et le passage à - 20°C le détruit totalement. YOSHIDA et REISFELD (246) retrouvent l'activité M.I.F., après passage sur Séphadex G100, dans 2 fractions de poids moléculaire différent : 12 000 et 67 000. La seconde de ces fractions a un poids moléculaire voisin de l'albumine. SCHWARTZ, après activation lymphocytaire par la concanavaline A (204) retrouve une activité MIF dans une fraction 5S, proche donc de l'albumine. WARD et DAVID (233), DUMONDE (58) obtiennent sur Séphadex des données similaires.

- Au Laboratoire du Professeur BERTHAUX, nous avons pu obtenir ( ), à partir de cultures lymphocytaires de malades à cuti positive en présence de tuberculine brute ou PPD, une activité inhibante significative sur des lymphocytes humains de sujets anergiques à la tuberculine. L'activité MIF ne nous est pas apparue dialysable. La précipita-

tation par le $SO_4$ $(NH_4)_2$ à 40% laisse le MIF dans la fraction albumine en électrophorèse, seule présente en filtration sur Séphadex G100. Cette activité se conserve au moins 3 jours à +4°C.

- Données personnelles : Cependant, utilisant une culture pure à 99,8% de lymphocytes obtenue par centrifugation sur mélange Ficoll-Triosil, après 3 lavages des lymphocytes dans du Hanks et mise en culture dans du 199 pur, en présence de PHA, nous avons vu disparaître l'albumine alors que persistait l'activité inhibante. Il n'est donc pas exclu que le MIF ainsi obtenu corresponde à la fraction de PM = 12 000 obtenue par YOSHIDA et REISFELD. L'albumine peut être considérée comme une protéine vectrice. Ce P.M. bas se rapproche du P.M. du facteur de transfert de Lawrence.

Des études sont en cours pour déterminer si cette substance est un polypeptide de faible poids moléculaire, voire un petit nucléotide.

2 - LE FACTEUR MITOGENE est un peu différent chez l'homme de ce qu'il est chez le cobaye (86)(121)(129). Il est cependant thermolabile (217). Pour MAINI et Coll. (58) il est libéré seul au cours de l'allergie réaginique, alors que dans les immunisations ne comprenant qu'une hypersensibilité retardée, il est associé au M.I.F.

3 - LE FACTEUR LYMPHOTOXIQUE (L.T.F.) est mieux connu. Il est lui aussi présent dans le surnageant acellulaire de lymphocytes de sujets à cuti positive en présence de tuberculine PPD (92), de culture mixte de lymphocytes ou sous l'effet de la P.H.A. (92)(241). Il semble cependant que des lymphocytes en culture continue puissent, en même temps que du M.I.F., secréter du L.T.F. (203). Cette libération débute dès

la 6è h, atteint son maximum à la 10èh (100% de destruction des cellules cibles) et se maintient au moins 30h (244). Dans ces conditions, le L.T.F. obtenu semble plus thermolabile que le L.T.F. obtenu après activation par la P.H.A. Il est inactivé, comme le L.T.F. de dobaye, par le Fluorure de sodium et les polyanions.

L'on peut comme chez l'animal, en rapprocher un facteur diminuant l'incorporation d'A.D.N. dans des cellules en culture n'appartenant pas au système lymphoïde. Cette diminution est de l'ordre de 20 à 22% avec un $p < 0,01$ par le Student's test, et semble donc significative ( ) ; Qu'il sagisse du L.T.F., du G.I.F. (Growth inhibiting factor) ( ) ou du P.I.F. (Proliferation inhibiting factor)(92), tous les auteurs s'accordent sur le fait qu'il est non dyalisable. Pour LEBOWITZ (85) le chauffage à 56°C pendant 30 minutes ledétruit, alors que pour GRANGER (90) 15 minutes à 70°C l'inactivent. Pour GREEN (92) cependant, après 30 minutes à 85°C le produit reste actif. Pour cet auteur, la trypsine fait disparaître l'activité L.T.F.. Le poids moléculaire sur Séphadex G100 est inférieur à 150 000. L'activité répartie sur plusieurs pics, est maximale au niveau d'un pic d'exclusion proche de 80 000.

c) Au total, les lymphokines humaines sont presque aussi bien connues que celles de l'animal. Il n'existe d'ailleurs entre elles que des différences de détail, liées probablement à des modalités techniques différentes. Il est probable qu'il s'agit de corps chimiquement proches, voire d'une seule et unique substance possédant plusieurs activités biolo iques, variant suivant le type de récepteur cellulaire sur lequel elle agit. Qu'elles soient uniques ou multiples, ces lymphokines en tous cas ont des actions qui s'ajoutent pour augmenter la réponse

TABLEAU 1



FACTEUR INHIBANT LA MIGRATION DES MACROPHAGES

| AUTEUR | ESPECE ETUDIEE | THERMO-STABILITE | FRACTIONNE-MENT | DIVERS |
|---|---|---|---|---|
| HEISE | Cobaye | détruit après qq mn à100°C | Non dyalisable Sephadex G 200 | Anticorps cytophile $_2$ en immunoélectrophorèse |
| AMOS | Cobaye | Stable à + 4°C | Sephadex G 100 | MIF dans fraction albumine |
| HALPERN | Cobaye | Stable à - 20°C | ND | ND |
| REMOLD | Cobaye | Stable à + 4°C et lyophilisé à -20°C | Sephadex G100 Polyacrylamide pH 9,1 | MIF dans fraction albumine mais en polyacrylamide dans fraction anodique Détruit par chymotrypsine et Neuraminidase |
| SVESCAR | Cobaye souris homme | ND | ND | Non spécifique d'espèce, mais d'antigène |
| SCWARTZ | Homme | Stable à + 4°C et lyophilisé à - 20°C | Sephadex G 100 | 2 fractions MIF - PM 12 000 - PM 67 000 associée à albumine |
| BARTFELD | Homme | Détruit à -20°C | Non dyalisable | Spécifique d'espèce |
| WARD | Homme | Non détruit à 56°C | Séphadex G 100 | MIF dans la fraction albumine associé à un facteur chimiotactique. |
| ROCKLIN | Homme | Stable à +4°C Conservé à 20°C | ND | Non spécifique d'espèce |

| | | | | |
|---|---|---|---|---|
| MAINI et DUMONDE | Homme | N D | Séphadex G 100 | ~~MIFxdanaxlaxfractionxalbumine~~ associé au MIF |
| GRANGER | Homme | Détruit par 70°C 15' | N D | Associé au LTF |
| LAMELIN | Cobaye | N D | N D | Associé au skin-reacting factor |

TABLEAU 2

FACTEUR MITOGENE

| AUTEUR | THERMO-STABILITE | ESPECE ETUDIEEE | DIVERS |
|---|---|---|---|
| MAINI | N D | Cobaye | Associé au MIF |
| SPITZLER | | Cobaye homme | M F HUMAIN THERMOLABILE<br>M F cobaye thermostable différent d'un antigène de transplantation. |
| LAMELIN | N D | Homme | |
| GRANGER | | Homme | Peut être antigène de transplantation |
| KASAKURA | | Cobaye homme | Non spécifique d'antigène et d'espèce. |
| GORDON | Stable à + 4° | Homme | Accumulation de l'activité mitogène en fonction du temps. |
| DUMONDE | Stable à - 20°C | Homme | Elué avec les albumines en Séphadex G 100<br>Non spécifique d'antigène et d'espèce. |

TABLEAU 3

FACTEUR REACTIF CUTANE

| AUTEUR | ESPECE ETUDIEE | THERMO-STABILITE | FRACTIONNEMENT | DIVERS |
|---|---|---|---|---|
| DUMONDE | Homme | N.D. | Sephadex G 100 | associé à une augmentation de la perméabilité vasculaire |
| PICK | Cobaye | N.D. | Sephadex G 200 | $\alpha_2$ globuline de migration lente, différente de $\beta_1 C$, $\alpha_2 M$, IgM |
| KRECJI | Cobaye | N D | N D | associé à facteur augmentant la perméabilité vasculaire : L.N.P.F. ? |
| LAMELIN | Cobaye | N D | N D | associé au MIF |

TABLEAU 4

| TEUR | ESPECE ETUDIEE | THERMO STABILITE | POIDS MOLECULAIRE | CELLULES CIBLES | DIVERS |
|---|---|---|---|---|---|
| OWLTZ Coll | Homme | Actif après 85°C 30' | Non dialysables | Cellules HeLa et L (souris) | Action de la PPD sur des lymphocytes |
| SE Coll | Animales | ? (stable à température ambiante) | ? | Cellules L de la souris | Libéré en même temps que le MIF |
| EN Coll | Homme | Actif après 30' à 85°C | Non dialysable | Allogéniques | Libéré par la PHA détruit par la trypsine |
| IVOR Coll | Animales | Thermo-labile | ? | Cellules lymphoïdes allo-immunes | Inhibé par le NaF |
| LIAMS oll | Homme et Animal | ? | ? | Sensibilité variable de diverses souches cellulaires | Isolé après culture mixte et PHA. Bloqué par les polyanions mais non l'Actinomycine D et la Puromycine ajoutés à la culture de cellules cibles |
| GER | Homme | Détruit après 15' à 70°C | ≠ 80.000 | Fibroblastes | Précipité par $SO_4$ $(NH_2)$ à 40 % |

d'immunité cellulaire et en expliquer la diffusion systémique.

- le MIF bloque les cellules monocytaires et augmente leurs capacités macrophagiques.

- le facteur cutané augmente la perméabilité vasculaire et facilite l'afflux de polynucléaires, regroupant peut-être aussi le LNPF et le facteur chimiotactique. Le facteur mitogène accrôit la multiplication cellulaire lymphocytaire par recrutement. Le facteur lymphotoxique détruit les cellules allogéniques à distance sans qu'intervienne le petit lymphocyte, cytotoxique par contact direct de membrane à membrane.

Les tableaux 1,2,3,4 résument les principales données acquises à leur sujet, tant chez l'homme que l'animal.

3 - Tests en 1 temps

a) Données de la littérature

C'est le mérite de SØBORG et BENDIXEN (18)(208)(209)(213) d'avoir les premiers mis au point un test simple permettant d'étudier directement la réactivité des leucocytes du sang périphérique vis à vis d'antigènes auxquels le sujet pouvait réagir, ceci dès 1967.

Du sang veineux (30ml) est prélevé sur héparine, et mis à sédimenter à 37°C. L'adjonction de polyvynil pyrrolidone ou de Dextran ne donne pas de meilleurs résultats et risque d'entraîner des modifications non spécifiques de la réactivité lymphocytaire. Au bout d'une heure, le surnageant riche en cellules blanches est prélevé à l'aide d'une pipette stérile, et placé avec du Hanks dans des tubes stériles. L'on centrifuge 5 minutes à 1000 rpm puis l'on rejette le surnageant et les cellules blanches sont soigneusement resuspendues dans du Hanks stérile, (205) et

lavées ainsi trois fois de suite. Après le dernier lavage, l'on rajoute du milieu 199 contenant du sérum de veau foetal. Les cellules sont alros placées en tube capillaire dont une des extrémités est bouchée. Le tube est ensuite centrifugé, puis sectionné à l'interface entre culot cellulaire et surnageant. Il est ensuite placé dans des chambres de migration de 1cm de diamètre, cylindre de verre collé à l'Araldite sur une plaque de 1mm d'épaisseur, chaque plaque, siliconée, comportant 18 chambres de migration. L'on rajoute ensuite l'antigène à étudier dans du 199 contenant 20% de sérum de veau foetal. L'ensemble doit être stérile. L'on place ensuite la chambre de migration dans une étuve à 37°C. Les résultats sont lus le lendemain par projection des surfaces à travers le dépoli d'un microscope, et le diamètre de la migration mesuré. En comparant les chiffres obtenus en l'absence d'antigène (Mo) et avec antigène (Mx) l'on détermine un index de migration : $IM = \frac{Mx}{Mo}$

Il est indispensable d'avoir plusieurs témoins sans antigène; de même, l'on doit avoir une batterie de dilutions de l'antigène étudié.

Chez 97 sujets atteints de Brucellose ou vaccinés par Br. abortus tué (souche BANG) ces auteurs (208)(211) ont pu démontrer que, en présence de 50 millions de bactéries/ml, l'index de migration significatif d'une inhibition était inférieur ou égal à 0,76, soit 24% d'inhibition par rapport aux témoins. Chez 82 personnes indemnes de Burcellose, l'I.M. est de 0,90 ± 0,07.

Ainsi pratiqué, ce test semble donc mesurer une hypersensibilité leucocytaire de type retardée. Il est normal que l'antigène n'inhibe pas la migration de lymphocytes purs obtenus après centrifugation sur gradient de Ficoll-Triosil (42). Il manque, en effet, les cellules

à activité phagocytaire, cibles de la sécrétion de M.I.F. L'isolement de polynucléaires et de monocytes par la technique de BOYUM chez des sujets normaux, leur adjonction à des lymphocytes purs permet d'obtenir de nouveau un index de migration témoignant d'une inhibition (43). Les monocytes sanguins circulants qui réprésentent seulement 3 à 4% de la population blanche ne semblent pas suffisants à eux seuls pour qu'apparaisse une inhibition. La présence des polynucléaires semble indispensable pour cela.

Ces premières études furent jugées non significatives, en particulier par KALTREIDER et Coll. (117). Utilisant des cellules de "buffy coat" de sang humain provenant de sujets à cuti positive, ils n'ont pu obtenir en présence de tuberculine PPD un index de migration significatif d'une corrélation avec les tests cutanés à la tuberculine, ce que SØBORG et BENDIXEN avaient démontré pour la brucellose. Pour KALTREIDER, la migration observée est totalement dépendante de la pesanteur. SØBORG et BENDIXEN cependant pensent que cet avis n'est pas motivé, et ceci pour diverses raisons techniques : proportion de sérum de veau insuffisante, utilisation de matériel non stérile et non siliconé, centrifugation trop forte (19).

LOCKSHIN (141) rencontre les mêmes difficultés en utilisant la PPD. ROSENBERG et DAVID (199) ont récemment testé cette technique. Malgré des essais infructueux chez 62 patients, en utilisant des variantes techniques nombreuses, ils ont mis au point une technique qui leur est apparue satisfaisante. 50 ml de sang veineux sont prélevés à la seringue, puis, après sédimentation d'1 h à 37°C, prélèvement du surnageant, que l'on centrifuge à 250 G x 5 minutes . On rejette le plasma et le culot

cellulaire est resuspendu dans du Hanks. L'on fait ainis 3 lavages. A la fin du dernier, le culot cellulaire est suspendu dans du milieu 199 contenant 10% de sérum de cheval, puis aspiré dans des tubes capillaires dont une des extrémités est bouchée à la flamme. Les capillaires sont ensuite centrifugés à 200 g x 10 minutes, puis sectionnés à l'interface surnageant-culot cellulaire. Il est indispensable que les tubes soient placés à plat, ainsi que la chambre de culture. Les temps ultérieurs sont similaires aux techniques habituelles.

Avec cette méthode, ils ont pu démontrer l'existence d'une inhibition chez 12 des 13 sujets étudiés qui présentaient une cuti positive, l'I.M. allant de 0,40 à 0,80 en présence de tuberculine PPD. Avec le même antigène, 11 sujets à cuti négative ont un index de migration compris entre 0,90 et 1,10. Le plasma de sujets à cuti positive n'entraîne pas d'inhibition de la migration des lymphocytes de sujets à cuti négative. Pour ces auteurs, les premières expériences négatives faites avec des tuberculoprotéines diverses avaient jeté la suspiscion sur ce test. Cette étude leur fait cependant conclure à la validité. Ils concluent que ce test d'hypersensibilité retardée chez l'homme peut être utilisé pour étudier des antigènes particulés et solubles, et peut être utile à l'étude de nombreuses maladies humaines.

b) <u>données personnelles</u>

Avec C.N. MULLER BERAT, R. MOULIAS et A. DEVILLECHABROLLE, nous avons mis au point dans le laboratoire du Pr Berthaux une technique avec laquelle à travers quelques modifications, nous avons à ce jour réalisé près de 600 tests.

La technique que nous donnerons ici en détail, a déjà été

décrite par ailleurs (163)(164)(165)(166) elle est très proche de celle de ROSENBERG et DAVID.

1- Recueil de sang veineux de façon stérile. Le volume nécessaire est d'au moins 15 ml. Si parfois, chez l'enfant, nous avons pu obtenir des résultats significatifs avec des quantités de l'ordre de 5 ml, les contrôles doivent être alors particulièrement soigneux et l'étape d'enrichissement relatif en globules blancs particulièrement minutieuse. Il n'est pas indispensable que la malade soit à jeun. Nous avons testé des malades atteints d'hyperlipidémie, en particulier d'hyperchylomicronémie (type I) sans observer d'anomalies du comportement leucocytaire.

Il est, par contre, indispensable que l'anticoagulant utilisé lors du prélèvement soit de l'héparinate de calcium, à l'exclusion de tout autre . Les héparines habituelles contiennent en effet du phénol, toxique pour les lymphocytes. ROSENBERG et DAVID aboutissent d'ailleurs aux mêmes conclusions (199).

Un traitement corticoïde prolongé a un effet inhibiteur sur le test, annulant peut-être la secrétion de MIF ou son effet sur les cellules phagocytaires. Si l'on rapproche cette donnée de ce qu'a observé LOCKSHIN lors de tests en 2 temps (140), il est plus probable qu'il s'agit d'une inhibition de la libération de MIF. La réapparition de fonctions lympho-monocytaires normales se fait en un temps variable, qui semble surtout dépendre de la durée du traitement antérieur. Pour qeulques lupiques intensément traités par le Cortancyl, il a fallu plusieurs semaines avant d'obtenir de nouveau une réactivité normale. L'hydrocortisone, par contre, semble très peu "déprimante". Donnée en particulier dans un but opothérapique, elle n'entraîne guère de modifications de la

migration.

Les immunodépresseurs chimiques (Azathipprine, Mecaptopurine) annulent rapidement toute inhibition de migration. Quant au sérum antilymphocytes de migration, nous n'avons pas eu suffisamment l'occasion d'étudier en TML les lymphocytes de malades ayant reçu ce traitement. Le sang une fois prélevé peut être maintenu à la température ambiante. Il ne doit en aucun cas être mis au frigidaire.

2- Les manipulations ultérieures doivent avoir lieu dans la journée du prélèvement. Il est préférable de manipuler aussi stérilement que possible. Après sédimentation d'1 heure à 37°C le sang est prélevé à l'aide d'une pipette plastique stérile de 10ml enlevant le plasma, riche en cellules blanches et la partie supérieure des globules rouges sédimentés. L'ensemble est placé dans des tubes plastiques stériles de 5ml; puis centrifugé une première fois (2000 tr/min-10 minutes). L'on rejette le plasma, puis, à l'aide d'une seringue stérile, les globules rouges en excès se trouvant à la partie inférieure du tube, en respectant la couche intermédiaire de globules blancs. L'on remplit ensuite le tube avec du milieu de Hanks stérile, ou du 199. L'on répète la même manoeuvre après une 2è centrifugation. Suit un second lavage au Hanks ou au 199; puis un troisième. Ceci aboutit à éliminer presque complètement le sérum du malade,; à chaque fois, une soustraction de globules rouges augmente la proportion relative de globules blancs.

3- Après le troisième lavage, l'on rajoute du milieu 199 (90% enrichi de sérum de poulain filtré (I.Pasteur)(10%) (199 - SP). Nous n'avons pas jugé utile de rajouter d'antibiotiques. Par contre, la pro-

portion de sérum de poulain a surement une grande importance, car avec des concentrations inférieures à 10% nous obtenons régulièrement des témoins sans antigène dont la surface de migration est moins grande. La quantité de 199-SP à rajouter au culot cellulaire restant est de l'ordre de 4cc pour 1cc de culot. Après remise en suspension soigneuse, l'on remplit les tubes capillaires (longueur : 10cm, diamètre intérieur : 0,5 mm) aux 3/4 avec le mélange 199-SP - sang. Une des extrémités est bouchée à la chaleur, les doigts placés entre la flamme et la limite supérieure des cellules évitant à celles-ci de brûler. Les tubes capillaires ainsi bouchés sont centrifugés une nouvelle fois à 2000 tr/m pendant 10'.

4- L'on sectionne alors les tubes à l'interface cellules blanches-surnageant. La partie contenant les cellules est placée dans la chambre de culture, l'extrémité bouchée étant maintenue en place par un peu de graisse siliconée (Dow corning Grease). La chambre de migration est un anneau de pyrex de 1,5 cm de diamètre sur 0,5 cm de profondeur, scellé à une plaque de Pyrex. Chaque plaque porte 10 chambres de culture. L'ensemble est siliconé. Chaque plaque est par ailleurs stérilisée avant toute utilisation.

Les tubes capillaires une fois placés dans les chambres de culture, l'on remplit chaque cuve de milieu 199-SP avec ou sans le ou les antigènes à étudier. Une lamelle couvre objet assure l'étanchéité : la plaque est portée à 37°C.

Après la fin des lavages et des centrifugations, nous avons fréquemment pratiqué des numérations des globules blancs présents. Nous étudierons plus loin l'importance des chiffres obtenus dans la fiabilit

du test.

5-18 à 24h plus tard, les plaques sont sorties de l'étuve. Après appréciation morphologique, la surface de migration cellulaire est aggrandie 200 fois par projection (aggrandissement Durst 609) et le contour dessinésur carton fort. L'on obtient ainsi des surfaces de migration sans antigène et en présence de l'antigène. Chaque surface est découpée puis pesée sur une balance de précision Nettler ou mesurée par planimétrie. Les valeurs numériques ainsi obtenues permettent le calcul de l'index de migration.

$$I.M. = \frac{Mx}{Mo}$$

Mx = Valeur de la migration en présence de l'antigène

Mo = valeur de la migration en l'absence de l'antigène

Nous ne parlerons pas ici de la préparation des antigènes, si ce n'est pour spécifier qu'ils sont toujours mis en suspension dans du 199-SP.

6- Aspect microscopique de la migration

Avec cette méthode, nous conservons une partie des globules rouges. En l'absence d'inhibition, les globules rouges sont cernés par une couronne de globules blancs régulière. La migration est circulaire, formant 2 zones concentriques régulières. Au sein de la zone de globules blancs se rencontrent parfois de petits aggrégats peu marqués. Nous avons pratiqué à plusieurs reprises une coloration au May-Grünwald-Giemsa de la migration obtenue. Nous utilisons pour cela des lames LKB pour usage microscopique ordinaire stérilisées mais non siliconées. La migration,

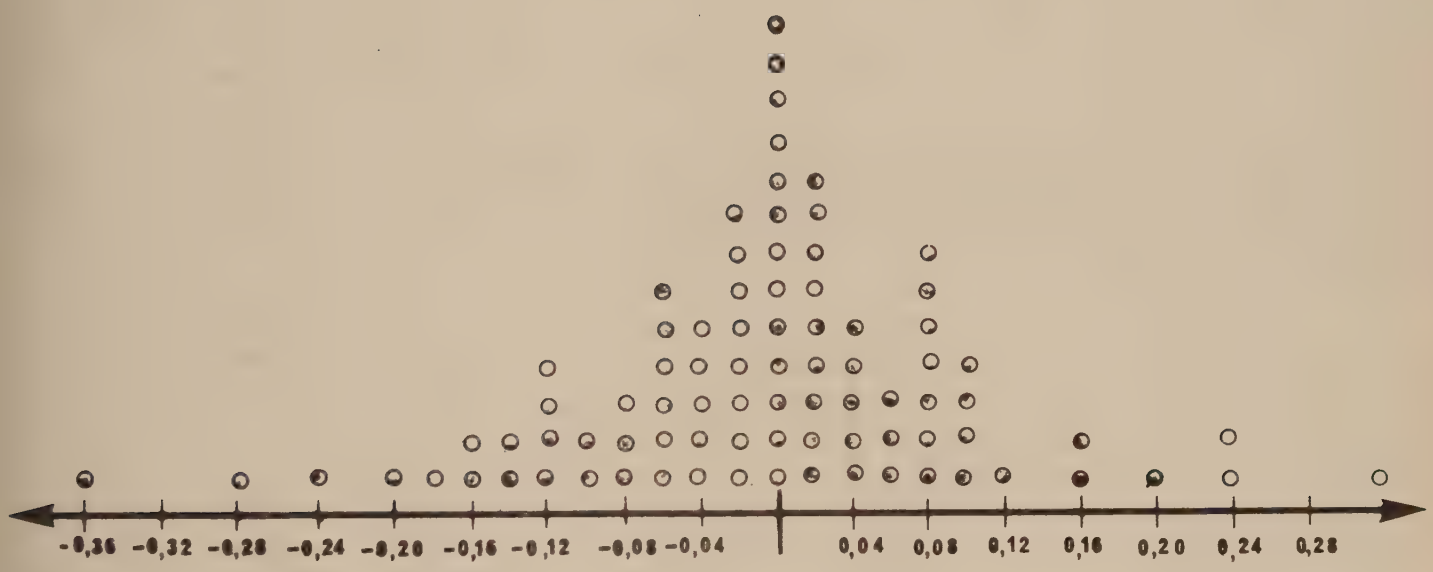
comme l'inhibition de migration, sont aussi nettes qu'avec un matériel siliconé habituel. Après 24h de migration, on fixe pendant 5 minutes avec de l'alcool méthylique, puis on colore suivant la technique habituelle. L'on voit ainsi que les cellules blanches observées en périphérie sont des cellules mononuclées. Il n'y a pratiquement pas de granulocytes. La limite extérieure du test est souvent difficile à préciser, les lymphocytes réalisant un dégradé sans frontière nette. Nous avons étudié également l'aspect obtenu après inhibition par le sérum antilymphocyte chez des sujets normaux ou par l'ADN chez les lupiques. Il n'y a pas de différence entre les 2 types d'inhibition. Dans les 2 cas, l'on observe des aggrégats de cellules mononuclées à la périphérie, dont la limite externe est nette. Des études sont en cours pour préciser le type de cellules impliquées (lymphocytes? Monocytes).

7- Fiabilité du test

Après une première période demise au point, il nous a semblé utile d'ajouter à ce calcul des données nous permettant d'apprécier la validité d'un test et de les comparer entre eux. Dans ce but, chaque test comporte au moins 2 témoins sans antigène. Mo représente donc la moyenne arithmétique de ces témoins et $\Delta$ Mo, la différence existant entre la migration des témoins. Nous définissons ainsi $DM = \frac{\Delta Mo}{Mo}$, ce qui nous donne une idée de l'identité entre les témoins.

Pour un ensemble pris au hasard de 89 tests, la répartition des variations entre les témoins est indiquée par le tableau 5. L'on voit ainsi que, pour 79,5% des tests, l'écart entre 2 témoins est inférieur ou égal à 10%. Si l'on va jusqu'à un écart de 20% (0,20), l'on inclut alors 95,9% des tests. Cet écart peut seformuler ainsi : I.M. = I.M. $\pm$ D.M.,

TABLEAU 5




**Répartition du D.M.** $\left(\frac{\Delta Mo}{Mo}\right)$ sur 89 tests.

Pour 79,5% des tests, le D.M. est compris entre ± 10%
Pour 95,9%, il est compris entre ± 20%

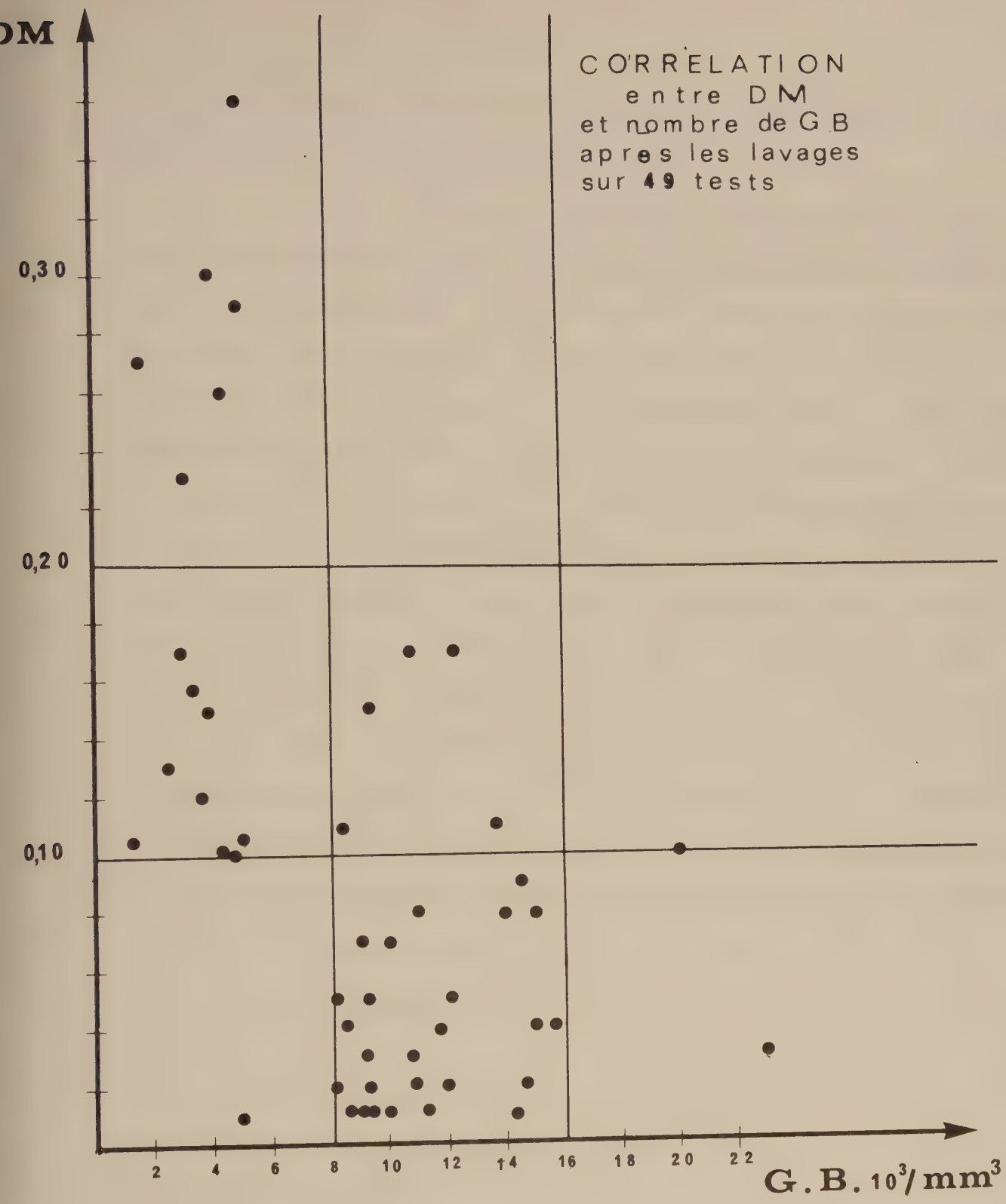

CORRELATION
entre DM
et nombre de G.B
apres les lavages
sur 49 tests
DM
0,30
0,20
0,10
2
4
6
8
10
12
14
16
18
20
22
G.B. 10³/mm³

TABLEAU 6

la valeur réèlle de chaque index de migration étant exacte à ± 10% dans 79,5% des cas, à ± 20% dans 95,9% des cas.

Dans 4,1% des cas, cependant, DM est supérieur à 20%. Nous n'avons pas tenu compte des résultats obtenus dans ces tests, la marge d'erreur étant alors trop élevée. Les raisons de cette absence de corrélation nous semblent, au premier chef, techniques. Une erreur quelconcque étant intervenue en cours de manipulation. Un autre facteur apparaît lorsqu'on étudie la corrélation entre le nombre de cellules blanches en dilution finale, au 3è lavage et le DM (tableau 6). Quand il y a moins de 8.000 GB/mm$^3$, le DM est toujours supérieur à 0,10. Il s'agit le plus souvent d'enfants dont la quantité de sang prélevée est de l'ordre de 5cm$^3$, et ne permet pas une bonne concentration des G.B. De 8 000 à 12 000 GB/mm$^3$, par contre, 9 fois sur 12, le DM est inférieur à 0,10. Il s'agit là, semble-t-il d'une concentration optimale, l'augmentation du nombre des cellules blanches n'augmentant pas la corrélation entre les témoins. L'on peut donc dire que, si DM permet de penser à un test valable, ou les migrationsavec et sans antigène peuvent être comparés:

- 4% seulement des test doivent être exclus
- 79,5% des tests sont exacts à 10% près, 17% le sont à 20% près
- cette corrélation, outre les facteurs techniques, dépendant d'une concentration finale de 8 à 12 000 GB/mm$^3$, soit 1,5 à 2,5 x 10$^6$ GB par tube capillaire.

c) Conclusion

Si, pendant quelque temps, les auteurs américains ont regardé avec suspicion ce test trop simple, le travail de ROSENBERG et de DAVID, dont l'autorité n'est pas à démontrer en ce qui concerne

le test d'inhibition des macrophages par lequel il a considérablement enrichi nos connaissances sur le M.I.F., vient renforcer notre affirmation que ce test en 1 temps pratiqué depuis 2 ans au laboratoire du Pr BERTHAUX, est un excellent moyen d'approche de l'hypersensibilité retardée in vitro chez l'homme.

## B- RESULTATS DANS QUELQUES MALADIES HUMAINES

### 1- Affections endocriniennes

L'on connaît de longue date l'existence d'anticorps dirigés contre les glandes endocrines au cours d'un certain nombre de maladies en apparence idiopathique de la thyroïde, des surrénales et des parathyroïdes.

#### a) affections thyroïdiennes

1- Rôle des anticorps : c'est au cours des atteintes thyroïdiennes que le rôle de l'auto-immunité est le mieux connu. Jusqu'à présent, chez l'homme, seuls pouvaient être mis en évidence des anticorps circulants, que ce soit par hémagglutination passive (anticorps antithyroglobuline) par fixation du complément sur microsomes thyroïdiens humains (anticorps antimicrosomial) ou par immunofluorescence indirecte (mettant en évidence ces deux types d'anticorps, plus un 3è, anti $CA_2$, donnant une immunofluorescence homogène de la colloïde).

Plusieurs revues générales récentes analysent chez l'homme les conditions dans lesquelles on peut les rencontrer (254) (255). Si l'on peut en tirer des arguments diagnostics, le problème est en fait de savoir s'ils ont un rôle pathogène direct. Les anti-

corps antithyroglobuline (ACAT) en eux-mêmes ne semblent guère cytotoxiques . Ils ne fixent pas le complément, condition nécessaire pour aboutir à une cytolyse in vitro. L'on ne sait d'ailleurs si l'existence d'un taux faible d'ACAT a une signification. En effet, la thyroglobuline n'est pas un antigène caché, contrairement à ce qui avait été dit. On en trouve des taux mesurables dans le sang circulant de personnes normales (226,et en quantité plus importante chez la femme enceinte et le nouveau né (46). Il s'agit donc d'un antigène toléré, mais vis à vis duquel rupture de tolérance transitoire ne signifie pas obligatoirement maladie auto-immune.

Il existe pourtant chez l'homme des anticorps cytotoxiques in vitro pour les cellules thyroïdiennes en culture ( 62). Ce sont plutôt les anticorps se fixant sur les microsomes thyroïdiens dans les tests d'immunofluorescence classiques, que les anticorps fixant le complément en technique sérologique . . Cependant, leur rôle n'est probablement pas unique. En effet, pour qu'ils soient actifs, certaines conditions expérimentales sont nécessaires: les cellules thyroïdiennes, pour être détruites, doivent avoir été isolées par trypsinisation. L'utilisation de collagènase pour la dissociation des cellules n'est pas suivie de destruction (136). D'autre part, les thyroïdites expérimentales sont aussi fréquentes chez les souris héréditairement déficientes en C'5 que chez des souris normales (168). Les anticorps anti-microsomiaux passent la barrière placentaire et pourtant les mères d'enfants athyréosiques n'ont pas plus d'anticorps anti-microsomiaux que les mères d'enfants normaux (40)(41)(13)Les essais de transfert de thyroïdite expérimentale par le sérum sont habituellement infruc-

tueux. L'on obtient le plus souvent un infiltrat éosinophile des espaces interstitiels de la thyroïde, sans cytolyse vraie (82)(83). Ces anomalies sont proches d'un phénomène d'Arthus local, mais ne ressemblent pas à l'infiltrat lympho-plasmocytaire des thyroïdites expérimentales (118)(119). Mais NAKAMURA (169) prélevant le sérum d'animaux thyroïdectomisés puis immunisés à la thyroglobuline, parvient en transférant les anticorps obtenus à déclencher chez le receveur une thyroïdite authentique. Il n'est pas impossible qu'avec les anticorps aient été présentes des lymphokines. L'on sait, en effet, qu'existe chez le cobaye (animal utilisé par NAKAMURA) un facteur sérique capable de positiver les réactions d'hypersensibilité retardée chez un donneur non sensibilisé (53)(175)(216). Il existe en outre des animaux chez lesquels se développe une thyroïdite spontanée. A côté de la chienne Beagle (14), du rat Buffalo (191)(192), la souche la plus étudiée est celle des poulets dits "obèses", car leur morphologie hypothyroïdienne est caractéristique (44)(124). Leur thyroïdite qui débute 3 semaines après l'éclosion, aboutit en effet à une insuffisance thyroïdienne. Chez ces animaux, la bursectomie à l'éclosion prévient l'apparition des anticorps antithyroïdiens et l'apparition ultérieure de la thyroïdite. Il existe chez eux une corrélation directe entre le taux d'anticorps anti thyroïdiens et la gravité de l'infiltration lympho-plasmocytaire thyroïdienne (126). Bien qu'importante, la responsabilité des anticorps dans le déclenchement de la thyroïdite n'est pas totale. En effet, l'injection d'anticorps dans la poche vitelline d'oeufs normaux n'a aucun effet sur le poussin, alros que l'injection de lymphocytes au même endroit entraî-

ne souvent une thyroïdite notable (235)(236)(237)(238)(239)(243)

2- Rôle de l'immunité cellulaire

L'aspect histologique des lésions de thyroïdite est un des meilleurs arguments en faveur d'une réaction d'HSR. L'expérimentation animale en fournit de nombreux exemples (150)(148). Au tout début, apparaît une infiltration périvasculaire lymphohistiocytaire. L'injection intradermique de thyroglobuline dès cette époque détermine l'apparition d'une papule dermique formée d'une infiltration identique. Plus tard, lymphocytes et macrophages envahissent la glande, puis plasmocytes et polynucléaires mais en nombre modéré. Une cytolyse thyroïdienne survient, suivie d'une fibrose qui peut persister 18 mois. (149)(150)(151)(230)

Les intradermo-réactions aux antigènes thyroïdiens sont positives dans les thyroïdites expérimentales, en excellente corrélation avec la sévérité des lésions. Chez l'homme, les travaux initiaux de BUCHANAN (55) montraient une positivité des réactions cutanées aux extraits thyroïdiens totaux dans 10 cas sur 52 malades atteints de maladie de Hashimoto, n'ont pas été repris depuis.

Les échecs de transfert de la thyroïdite expérimentale par le sérum des animaux atteints orientaient vers des essais à partir des cellules lymphoïdes. Les lymphocytes se sont montrés capables de transférer une thyroïdite chez le cobaye (49)(127) ou le rat (227)(140). Elle débute 8 à 10 jours après l'injection ; le taux d'anticorps circulants reste faible ou nul. Par contre, les réactions cutanées d'HSR se positivent très tôt (4è jour). Le rôle direct des lymphocytes semble

donc expérimentalement démontré. Encore fallait-il rendre compte de leur action directe au niveau de la thyroïde. L'on sait que, in vitro et dans certaines circonstances, les lymphocytes peuvent avoir une actic cytotoxique directe sur des cellules en culture vis à vis desquelles ils ont été préalablement immunisés. In vitro, cependant, les lymphocytes d'animaux atteints de thyroïdite, ou de patients atteints de maladie de Hashimoto, ne détruisent pas les cellules thyroïdiennes en culture. L'on observe, certes, qu'il s'agit de cellules migrant activement dans la culture, traversant même les cellules vésiculaires : d'est le phénomène d'empéripolèse (136). Des études en microscopie électroniques (252) ont montré, au niveau de corps thyroïdes humains enlevés pour thyroïdite "auto-immune", que les lymphocytes poussaient des pseudopodes à l'intérieur des cellules vésiculaires avant d'y (62) pénétrer. Peut-être s'agit-il d'un début de cytolyse, encore que les lymphocytes puissent agir ici en tant que donneur d'ADN à des cellules en multiplication cellulaire active réactionnelle à une cytolyse d'autre origine (BRYANT). KITE a pu cependant monter l'existence d'une cytolyse par les lymphocytes dans la thyroïdeite du cobaye (123). Le rôle des immunodépresseurs, dont on sait qu'ils suppriment essentiellement l'immunité cellulaire, est aussi en faveur d'une HSR. Chez l'animal, le cyclophosphamide, le méthodrexate (170), le sérum antilymphocyte(114)(116)(154) préviennent la survenue d'une thyroïdite, à condition qu'ils soient donnés dès le début de l'immunisation. Ils n'empêchent pas la secrétion des anticorps , mais les réactions cutanées restent négatives (116), Débutés au 2è jour, ils sont inefficaces. Le traitement immunosuppresseur n'a été essayé chez l'homme que lors des ophtalmopathies Basedowiennes où le rôle des anticorps

semble prédominant. Il semble surtout actif par son action anti-inflammatoire [illegible].

- au cours des dernières années, sont apparus un certain nombre de tests in vitro permettant d'étudier les réactions d'hypersensibilité retardée à partir des lymphocytes circulants. Le test de transformation lymphoblastique fut le premier d'entre eux. Bien que chez l'animal l'on ait mise en évidence la transformation des lymphocytes en présence d'antigènes thyroïdiens (198), les résultats chez l'homme semblent plus contradictoires. Non significative pour de GROOT (55) qui observe pourtant dans quelques cas jusqu'à 17% de cellules transformées, cette réaction est positive pour REINERT et MOULIAS (188) dans les thyroïdites et certains myxoedèmes primitifs et est indépendante du taux des anticorps.

La formation de rosettes lymphoïdes autour de globules rouges chargés de thyroglobulines semble, pour PERRUDET-BAROUX et Coll. (249) en meilleure corrélation avec les lésions thyroïdiennes expérimentales que le taux des anticorps. Ce test fut, pour eux, positif 21 fois sur 22 thyroïdites étudiées. La migration électrophorétique des lymphocytes est ralentie en présence de l'antigène spécifique. FIELD
(71) et CASPARY ont mis en évidence un phénomène similaire, en mettant en présence les lymphocytes de malades atteints de maladie de Basedow et de la thyroglobuline. Le test de migration des leucocytes (TML) semble donner également des résultats intéressants. La migration des macrophages péritonéaux d'un cobaye sensibilisé à la thyroglobuline est inhibée 24 heures après la positivation des réactions cutanées et du test de transformation lymphoblastique, alors même qu'il n'y a pas d'anti-

corps circulants (198).

3- T.M.L. et affections thyroïdiennes- Données personnelles

1) Matériel et méthode

Les antigènes utilisés furent, d'une part un extrait thyroïdien (Jean-Roy-Freyssinge) (TJR) et d'autre part des microsomes thyroïdiens humains lyophilisés, obtenus à partir de pièces opératoires d'hyperthyroïdie (antigène fixant le complément :C Fag). Furent également utilisés de façon peu étendue, des extraits salins totaux de thyroïdes humaines et de la thyroglobuline humaine obtenue suivant la technique de ROCHE et DERRIEN.

L'extrait thyroïdien bovin (TJR) fut utilisé dilué dans du 199 contenant 10% de sérum de poulain, à la dilution finale de 1000 $\gamma$ /ce de milieu. L'antigène était stocké à -20° C à dilution plus élevée (10.000 $\gamma$ /ce) la dilution finale étant obtenue au moment du test. L'antigène microsomial était préparé extemporanément, dilué au 1/10è dans du 199 contenant 10% de sérum de poulain, et utilisé une fois, le gel-dégel d'un flacon ouvert entraînant en règle des anomalies de migration.

Quatre groupes furent constitués: groupe témoin comportant des sujets normaux ou souffrant d'affections sans relation avec la sphère thyroïdienne. Hyperthyroïdies- à l'exclusion des adénomes toxiques- authentifiées par une courbe de fixation du $^{131}I$ élevée, avec ou sans troubles oculaires et myxoedème prétibial. Thyroïdites, groupe probablement hétérogène, comportant des sujets présentant un goître d'allure inflammatoire, avec ou sans anticorps antithyroïdiens au

moment du test. Myxoedèmes, groupe le plus homogène, où l'absence de fixation de l'$^{131}$I et le tableau clinique ne laissaient guère place aux hésitations.

2) Résultats (tableaux 7 et 8)

Les témoins sont au nombre de 45 pour l'extrait thyroïdien bovin, de 20 pour l'antigène microsomial. L'index de migration pour ces 2 groupes, va de 0,60 à 1,10. L'on peut donc considérer qu'un index de migration inférieur à 0,60 témoigne d'une inhibition, et qu'un index supérieur à 1,10 est le signe d'une excitation sous l'influence de l'antigène, comme le suggéraient DAVID (53) et SØBORG et BENDIXEN (18). Dans les 2 cas, ceci peut être considéré comme significatif d'une réponse d'immunité cellulaire chez le malade.

24 hyperthyroïdies furent étudiées avec l'extrait thyroïdien total. 10 ont un index de migration inférieur à 0,60, un seul a un index de 1,30, témoignant d'une excitation de la migration en présence de l'antigène. Dans ce groupe, donc 42% des malades ont une réponse d'immunité cellulaire à cet antigène (tableau 7). 13 hyperthyroïdies furent testées vis à vis de l'antigène microsomial. 4 ont un index inférieur à 0,60, 1 a un IM à 1,20, 2 ont des réponses limites, trop proches de 0,60 pour que l'on puisse conclure. Vis à vis de l'antigène microsomial donc, 5 hyperthyroïdies sur 13 (40%) ont une réponse d'immunité cellulaire (tableau 8).

Pour les thyroïdites, 20 sujets furent étudiés avec l'extrait thyroïdien total. 9 ont soit une inhibition (8 fois) soit une augmentation de la migration (1 fois), donc 45% de réponses positi-

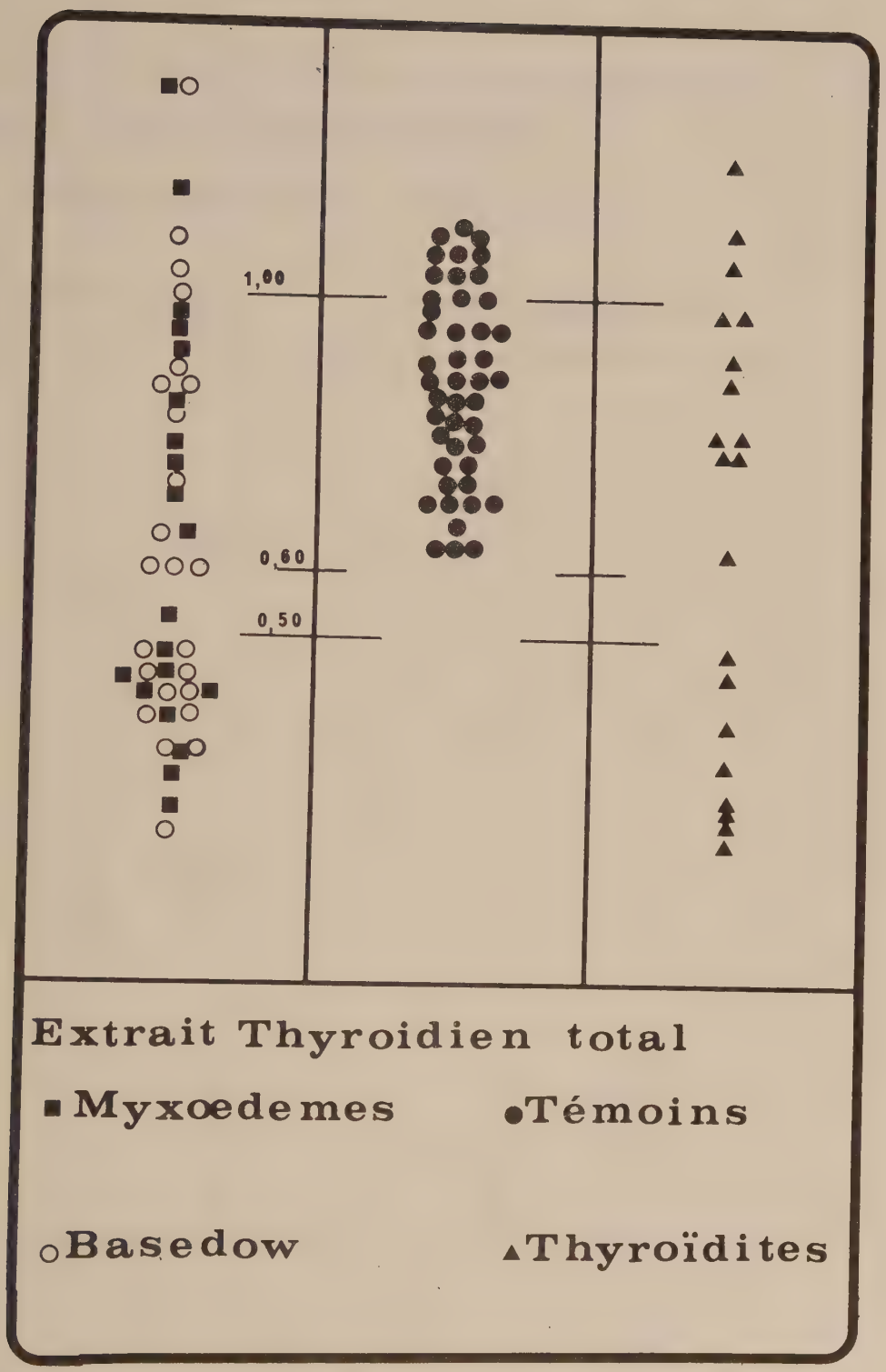

1,00
0,60
0,50
Extrait Thyroidien total
▪ Myxœdemes
● Témoins
○ Basedow
▲ Thyroïdites

TABLEAU 7

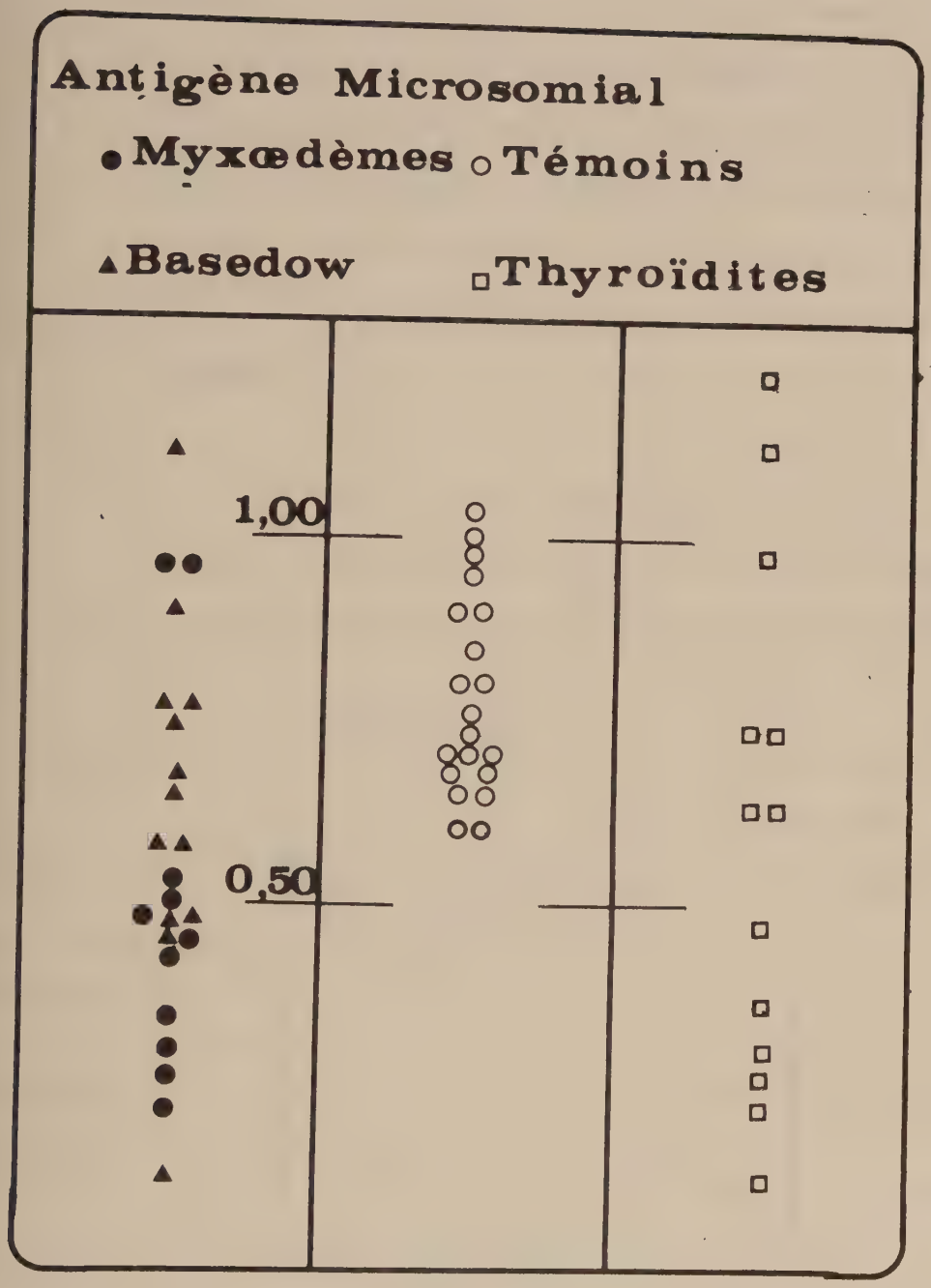

Antigène Microsomial
Myxœdèmes
Témoins
Basedow
Thyroïdites
1,00
0,50

TABLEAU 8

ves (tableau 7). L'antigène microsomial semble donner de meilleurs résultats : 8 sujets sur 14 étudiés ont une inhibition (6 fois) ou une augmentation (2 fois) de la migration, soit 57% de réponses positives (tableau 8). Chez les myxoedémateux, les résultats obtenus sont assez différents. En présence d'extrait thyroïdien total, 12 des 20 sujets étudiés ont une migration leucocytaire diminuée (10 fois) ou augmentée (2 fois) soit 60% de réponses positives (tableau 7).

Vis à vis de l'antigène microsomial, c'est 8 fois sur 10 que l'on trouve une inhibition nette, soit 80% de positivités. Le tableau suivant (tableau 9) résume ces données.

**TABLEAU 9**

| | % de réponses positives | | | |
|---|---|---|---|---|
| | Extrait thyroïdien total | Nombre de cas testés | | Microsomes thyroïdiens |
| Hyperthyroïdies | 42 % | 24 cas | 13 cas | 40 % |
| Thyroïdites | 45 % | 20 cas | 14 cas | 57 % |
| Myxoedèmes | 60 % | 20 cas | 10 cas | 80 % |

Lorsqu'on étudie la corrélation des réponses à chacun des 2 antigènes chez un même malade (Tableau 10), l'on peut distinguer 4 possibilités :

- Réponse positive aux 2 antigènes, avec un index de migration inférieur à 0,60 dans les 2 cas : zone 1 du tableau.

- Réponse positive à l'antigène microsomial, négative à l'extrait thyroïdien total (zone 2).

- Réponse négative aux 2 antigènes (zone 3)

- Réponse positive à l'extrait thyroïdien total, négative à l'antigène microsomial (zone 4)

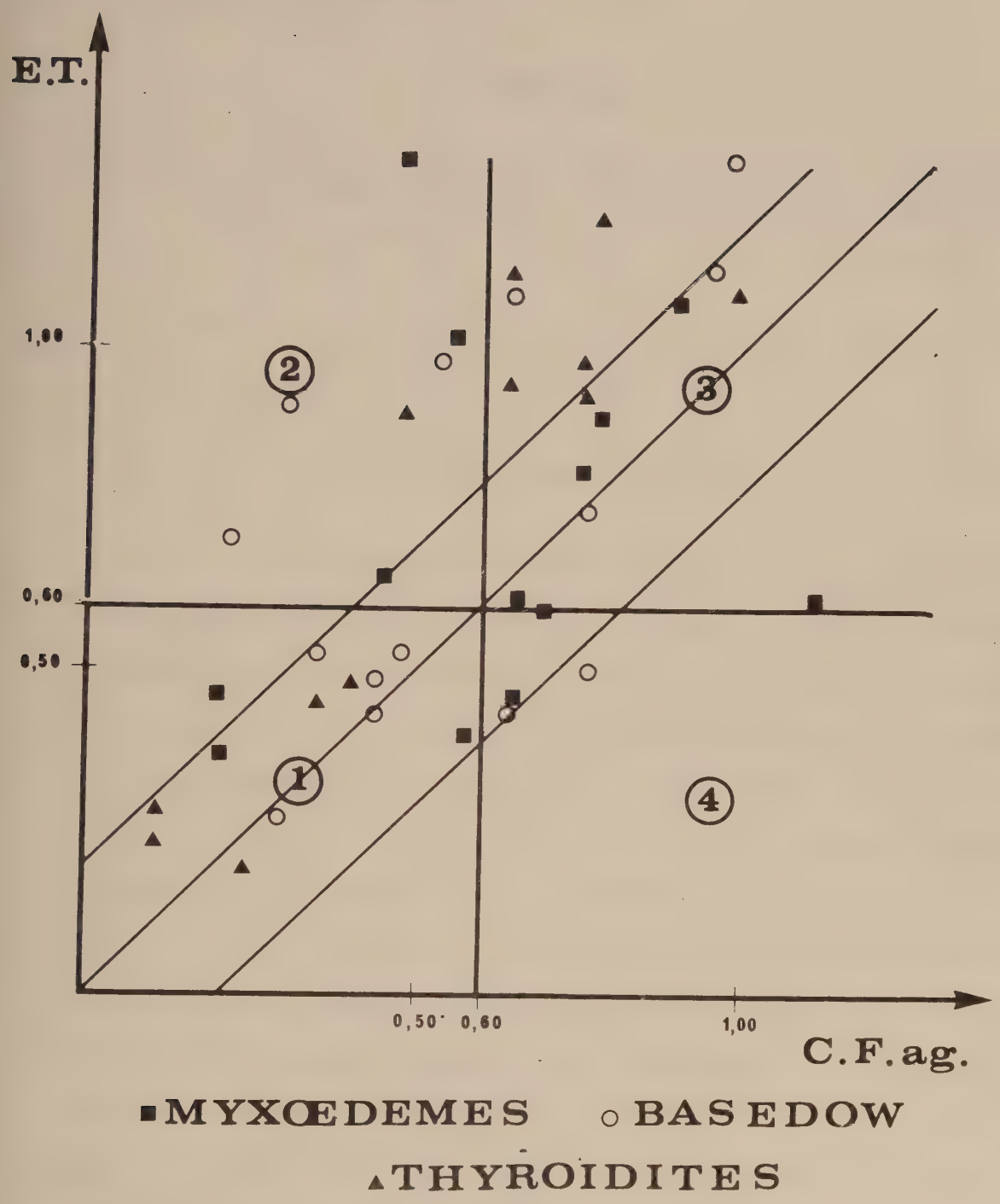
L'on voit ainis que dans la zone 1, correspondant à la zone de positivité, les réponses aux 2 antigènes testés sont en bonne corrélation à 20% près. Seul un myxodème donne une réponse plus franche aux microsomes thyroïdiens humains qu'à l'extrait thyroïdien total. Il n'existe pas, dans les autres zones du tableau de corrélation nette entre les réponses. Cependant, l'on confirme ainsi l'impression que l'antigène microsomial donne dans l'ensemble des réponses plus fidèles que l'extrait ~~xxxx~~ thyroïdien total. Ces données sont figurées par ailleurs dans le tableau 11.

TABLEAU 10

| | 1<br>Réponses positives aux 2 antigènes | 2<br>Réponse + à CF ag<br>Réponse - à TJR | 3<br>Réponse - aux 2 antigènes | 4<br>Réponse - à CF ag<br>+ à TJR | TOTAL |
|---|---|---|---|---|---|
| Thyréïdites | 5 | 1 | 6 | 0 | 12 |
| Basedow | 5 | 1 | 4 | 2 | 12 |
| Myxoedèmes | 3 | 3 | 5 | 2 | 13 |

Si l'on compare les résultats du TML avec les résultats de la recherche d'anticorps antithyroglobuline par la technique d'hémagglutination passive, l'on obtient les résultats suivants :

TABLEAU 11



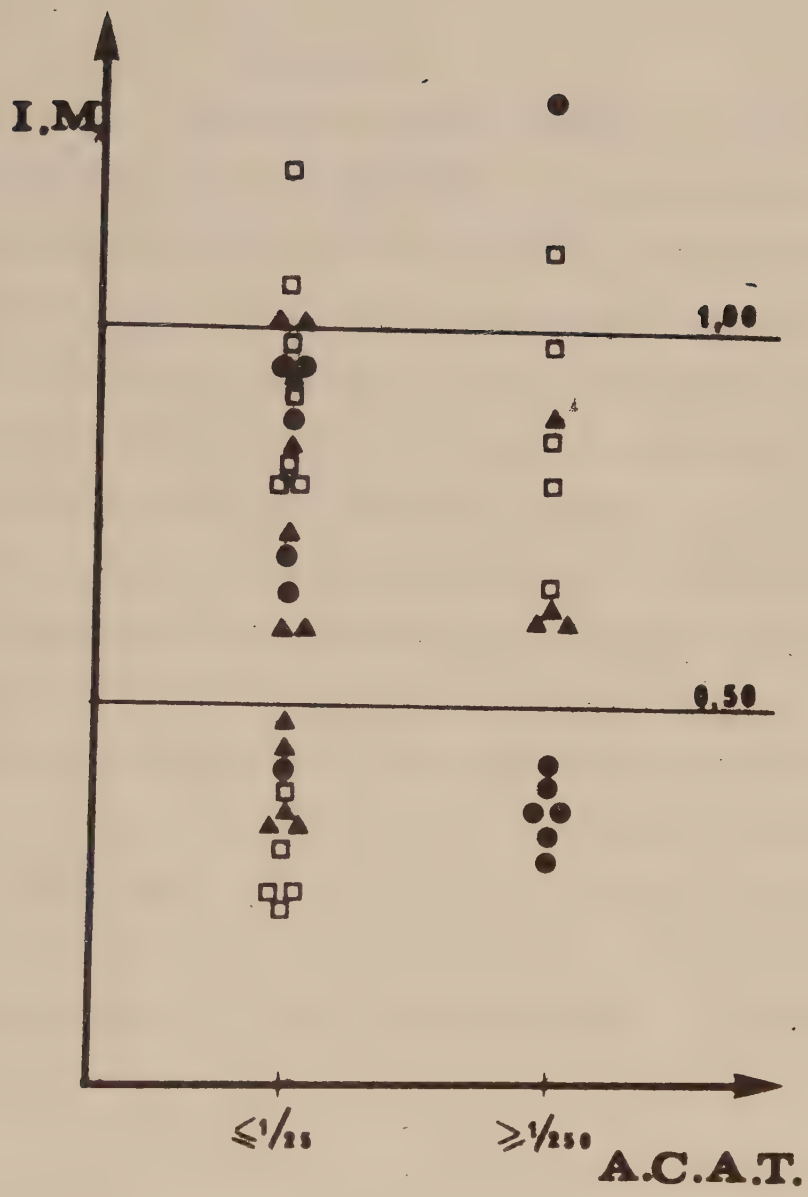

CORRELATIONS DES REPONSES ENTRE ANTIGENE MICROSOMAL THYROIDIEN (C.F.) ET EXTRAIT THYROIDIEN TOTAL(E.T.)

(Tableaux 12 et 13).

TABLEAU 12

| | AC+ ;TML + | AC- ;TML + | AC+ ;TML - | AC- ;TML- | TOTAL |
|---|---|---|---|---|---|
| Thyroïdites | 0 | 5 | 4 | 6 | 15 |
| Basedow | 0 | 5 | 5 | 7 | 17 |
| Myxoedèmes | 7 | 1 | 0 | 5 | 13 |

Sont considérés comme positifs des titres d'anticorps antithyroïdiens (A.C.A.T.) supérieurs ou égaux au 1/250è. L'antigène vis à vis duquel nous avons retenu une positivité en TML est l'extrait thyroïdien total. Il eut été en effet illogique de comparer les résultats du TML aux microsomes thyroïdiens avec des anticorps antithyroglobuline. L'on voit ainsi que, aussi bien pour les thyroïdites que pour les Basedow, l'on n'observe pas simultanément chez le même malade une inhibition en TML et la présence d'anticorps anti thyroïdiens. Cependant, lorsqu'on tient compte de chaque technique séparément, l'on retrouve des signes témoignant ~~xxxxxx~~ d'auto-immunisation cellulaire ou humorale, dans 60 % des cas de thyroïdites (9/15) et 59 % des cas d'hyperthyroïdie (10/17). Le cadre des myxoedèmes semble particulier : la corrélation entre les deux tests est presque constante. Une positivité du TML est accompagnée 7 fois sur 8 d'anticorps antithyroglobuline à un chiffre significatif. Quand le TML est négatif, il n'y a pas d'anticorps antithyroglobuline. Le pourcentage de positivités en associant les 2 techniques est de 60 %, inférieur cependant semble-t-il à ce que donne le




Correlation entre Anticorps et TML

□ THYROIDITES

● MYXOEDEMES

▲ BASEDOW

TABLEAU I3

TML avec l'antigène microsomial (80 % de positivités).

4-Discussion

SØBORG et HALBERG (210) ont également étudié ce test au cours de thyroïdites comportant un titre élevé d'anticorps. Utilisant une thyroglobuline huamine purifiée, ils observent dans les 15 cas ainsi étudiés 40 % d'inhibition de migration et 40 % d'augmentation de la migration. Cependant, l'inhibition de migration est pour eux sans corrélation directe avec le taux des anticorps. Leur test peut être biaisé et le nombre de positivités augmente, du fait de la présence sur les monocytes humains d'anticorps cytophiles (206) que l'on sait présents indépendamment des anticopps anti thyroglobuline (158). Nous avons vu qu'il n'y a en fait pas de corrélation directe au cours des thyroïdites entre la présence d'anticorps anti thyroglobuline et une inhibition de la migration. Pour 2 des thyroïdites que nous avons étudié et dont le TML montrait une inhibition en présence d'antigène microsomial sans anticorps antithyroglobuline, l'on a obtenu par biopsie ou exérèse chirurgicale la preuve histologique qu'il s'agissait bien de maladie de Hashimoto.

Il n'y a pas dans la littérature de données concernant les réactions d'immunité cellulaire au cours de la maladie de Basedow. Les revues d'ensemble concernant la présence d'anticorps antithyroïdien donnent des chiffres de 45 à 52 % de positivité (253)(254), ce qui est à peine inférieur à ce que nous avons pu observer en associant les 2 techniques (59 %). Les myxoedèmes idiopathiques constituent surement un cadre particulier. Certains auteurs en font le stade ultime d'une thyroïdite auto-immune latente (11)(12),annoncée chez l'adulte par

un état de pré-myxoedème, ou, aux anticorps antithyroïdiens s'associe une élévation de la TSH et l'apparition d'une protéine iodée anormale non butano-extractible(27)(28)(35). Nous n'avons pas eu la possibilité de tester l'immunité cellulaire de sujets normaux adultes présentant un taux significatif d'anticorps anti thyroïdiens en l'absence d'anomalies majeures de la fonction thyroïdienne. Une telle étude est en cours chez le vieillard. La fréquence d'une réaction d'hypersensibilité retardée aux microsomes thyroïdiens (80 %), la quasi constance de l'association anticorps-antithyroglobuline-réaction d'immunité cellulaire à l'extrait thyroïdien total semble en tous cas aller dans le même sens.

Il semble donc que, contrairement à l'hypothèse de ROITT et DONIACH (197), l'on trouve dans les maladies thyroïdiennes des phénomènes d'hypersensibilité retardée. Rien ne permet encore de dire s'ils ont un rôle dominant dans la perpétuation des lésions et moins encore dans leur déclenchement.

b) Surrénales

1°) Données de la littérature :

Après injection d'extrait salin de surrénales dans de l'adjuvant complet de Freund, l'on obtient chez l'animal d'expérience une surrénalite auto-allergique débutant 8 à 15 jours plus tard. Il s'agit bien d'une atteinte auto-immune puisque la surrénale est un organe pair, et l'injection à l'animal d'une de ses glandes est suivie d'une lésion de l'organe restant (131). Il en va de même dans une souche de cobayes génétiquement identiques (106). Ces lésions sont le plus souvent transitoires, mais une souche de rats Lewis développe une insuffisance surrénale aboutissant au bout d'un an à une rétraction corticale anatomique (106), très proche de ce que l'on observe dans la maladie d'Addison idiopathique humaine.

Chez ces animaux, l'on met en évidence la présence d'anticorps dirigés contre les diverses couches du cortex surrénalien. Chez l'homme, les études de SPINNER et coll. (214), de ANDRADA (251), de POUSSET (182) ont montré la présence d'anticorps antisurrénaliens dans 42 à 50 % des atteintes idiopathiques. De nombreuses études ont montré que l'antigène en cause avait une spécificité d'organe, et non d'espère puisque la surrénale de singe donne, en immuno-fluorescence indirecte, d'aussi bon résultats que la surrénale humaine (182). Les anticorps de ces malades ne se fixent pas seulement à la surrénale mais aussi aux autres cellules qui, dans l'organisme, produisent des stéroïdes : ovaires, testicule, placenta (107).

L'on ne sait si les anticorps de ces malades ou des animaux d'expérience sont cytotoxiques pour des cellules surrénaliennes en culture. Cependant, les lymphocytes ganglionnaires d'un rat présentant une surrénalite peuvent induire une lésion identique si on les injecte à un rat normal. Les lésions observées sont d'ailleurs identiques à ce que l'on observe dans les isogreffes surrénaliennes (133). Les stades précoces associent une dilatation veinulaire avec diapédèse lymphocytaire, bientôt suivis des autres cellules mononucléées (99)(131)(132)

Ces diverses données témoignent en faveur du rôle important de l'immunité à médiation cellulaire dans les surrénalites auto-immunes expérimentales.

2°) Données personnelles :

MOULIAS et GOUST ont étudié par le TML 22 insuffisances surrénales primaires ; 7 d'entre elles semblaient manifestement tuberculeuses : antécédents de pleurésie tuberculeuse, de tuberculose pulmonaire ou osseuse ; 1 cas d'insuffisance surrénale par histoplasmose et 1 cas de surrénalectomie chirurgicale bilatérale pour hypertension artérielle y étaient associés ; 12 étaient idiopathiques.

L'antigène utilisé fut de la surrénale de singe africain (macacca mubatta) en extrait salin, à la dose de 1 000 gammas/cc de milieu de culture. L'utilisation de glande surrénale humaine hyperplasique ne nous a pas donné de bons résultats.

Parmi les Addison tuberculeux, 8 n'ont pas manifesté d'inhibition de la migration leucocytaire. Un seul eut à 2 reprises un index de migration à 0,22 et 0,36, en même temps d'ailleurs que l'immuno-fluorescence montrait l'existence d'anticorps anti-surrénaliens contre toutes les couches du cortex.

Les leucocytes des malades atteints d'Addison par histoplasmose et d'insuffisance surrénale post-surrénalectomie ne furent pas non plus inhibés.

Parmi les insuffisances surrénales idiopathiques, l'index de migration fut trouvé significativement abaissé 10 fois sur 12 (83 % de positivité). Les tableaux 14 et 15 résument ces données.

3°) Discussion :

NERUP et BENDIXEN ont été les premiers (171) (172) (173) (174) à signaler, à l'aide du TML, l'existence d'une réaction d'immunité cellulaire au cours des insuffisances surrénales idiopathiques. Sur 30 malades ainsi étudiés, 14 présentaient une inhibition de migration, soit 46 % des cas. La dose d'hydrocortisone ou d'acétate de cortisone reçue par le malade au moment du test n'est pas précisée, mais peut avoir influé sur l'index de migration. Si

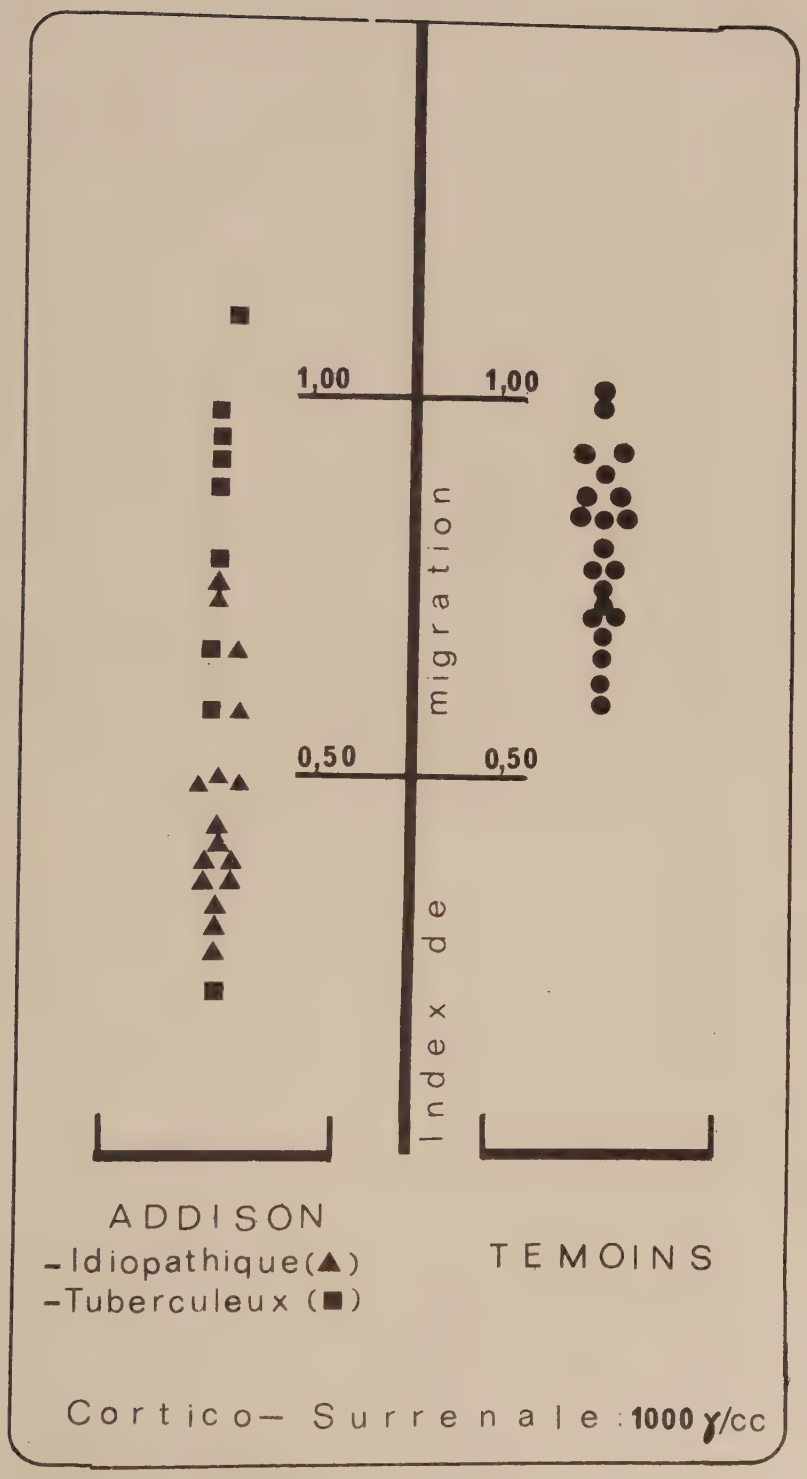

1,00
1,00
0,50
0,50
Index de migration
ADDISON
-Idiopathique(▲)
-Tuberculeux (■)
TEMOINS
Cortico- Surrenale : 1000 γ/cc

TABLEAU 14

# TABLEAU 15

| | | | ADDISON TUBERCULEUX (ou histoplasmose *) (ou surrénalectomie bi-latérale **) | INSUFFISANCE SURRENALE IDIOPATHIQUE |
|---|---|---|---|---|
| 1 | LAN... | ♀ | | 0,32 |
| 2 | TIS... | 1) ♂<br>2) | | 0,39<br>0,37 |
| 3 | MAL.... | ♀ | | 0,43 |
| 4 | MAI... | ♀ | | 0,26 |
| 5 | ROU... | ♂ | 0,88 | |
| 6 | COM... | ♀ | | 0,39 |
| 7 | DUP... | 1) ♀<br>2) | 0,22<br>0,36 | |
| 8 | ROC... | ♀ | | 0,48 |
| 9 | THI... | ♂ | ** 0,93 | |
| 0 | CHA... | ♀ | 0,68 | |
| 1 | MEC... | ♂ | * 1,10 | |
| 2 | HAA... | ♀ | | 0,32 |
| 3 | IMF... | ♂ | | 0,43 |
| 4 | BOU... | ♂ | | 0,70 |
| 5 | GIR... | ♂ | 0,73 | |
| 6 | ALV... | ♂ | | 0,42 |
| 7 | CHE... | ♂ | | 0,41 |
| 8 | BER... | ♂ | | 0,66 |
| 9 | CHO... | ♀ | 0,55 | |
| 0 | GAT... | ♂ | 0,85 | |
| 1 | GAR... | ♂ | 0,78 | |
| 2 | FRE... | ♂ | 0,98 | |

l'hydrocortisone en dessous de 30 mg pro die ne semble pas avoir d'effet, par contre l'acétate de cortisone en injections fait disparaître la réactivité lymphocytaire. Nous avons pris garde de n'étudier les malades qu'après un arrêt suffisamment prolongé des injections, ce qui peut expliquer la différence de positivités dans les 2 séries. Pour NERUP et BENDIXEN, il n'existe en tous cas aucun parallélisme entre la présence d'anticorps antisurrénale et la positivité du test.

Par contre, l'injection intra-dermique de microsomes surrénaliens entraîne dans 6 des 7 cas où elle fut pratiquée une réaction typique d'hypersensibilité retardée allant de pair avec une inhibition de migration in vitro. Le microsome surrénalien semble en effet être le meilleur antigène dans ce test (174) comme le fut pour nous le microsome thyroïdien lors des myxoedèmes.

Par contre, ils n'ont pu obtenir de transformation lymphoblastique en présence de cet antigène.

Ainsi, il semble exister au cours des insuffisances surrénales idiopathiques un pourcentage variable -mais important- de cas comportant des manifestations d'immunité cellulaire.

c) Parathyroïdes

1°) Données de la littérature :

L'hypoparathyroïdie primitive est, chez l'homme, une affection rare. Si elle se rencontre chez l'enfant en association avec une dysplasie thymique, constituant alors le syndrôme de di George fatal avant 2 ans, elle peut aussi se rencontrer chez l'adulte ou le grand enfant, et semble parfois s'associer à des perturbations immunitaires.

Chez l'animal, en employant des extraits thyroïdiens totaux (79) (105) contenant probablement aussi des parathyroïdes en tout ou en partie, l'on a pu provoquer des lésions parathyroïdiennes à type d'infiltration lympho-plasmocytaire en même temps qu'une thyroïdite du type habituel. LUPULESCU et coll. (143) (144) ont pu créer expérimentalement chez le chien et le rat de telles lésions par injection d'extrait salin de parathyroïdes mélangées à de l'adjuvant complet de Freund. L'apparition d'anticorps anti-

parathyroïdes mis en évidence par une réaction d'immuno-fluorescence indirecte allait de pair avec une atteinte fonctionnelle de la glande : hypocalcémie, comportant au stade aigu des manifestations dramatiques chez le chien, mais sans manifestations cliniques chez le rat.

Chez l'homme, SPINNER et coll. (214), IRVINE et coll. (108) ont trouvé des anticorps antiparathyroïdes non seulement dans 38 % des hypoparathyroïdies idiopathiques, mais aussi dans 26 % des cas de maladies d'Addison idiopathiques.

Il semble que les adénomes parathyroïdiens à cellules oxyphiles soient le meilleur support pour la réaction d'immuno-fluorescence indirecte qu'ils utilisent (108). Dans les familles des malades atteints, l'on trouve avec une fréquence assez faible mais significative des anticorps antiparathyroïde et/ou antisurrénale.

2°) Données personnelles :

GOUST et MOULIAS ont étudié par le TML 10 cas d'hypoparathyroïdie idiopathique, répartis de la façon suivante :

- 8 cas isolés, sans autre endocrinopathie associée ; 7 sont des adultes ; le 8ème est un enfant de 18 mois, qui ne semblait présenter par ailleurs aucun déficit immunitaire, et en particulier pas de candidose muco-cutanée.
- 1 cas associé à une défaillance ovarienne précoce.
- 1 garçon de 12 ans présentant en outre une candidose muco-cutanée et une insuffisance surrénale idiopathique, dont l'étude clinique a été publiée par ailleurs (179)

L'antigène utilisé fut un extrait salin de parathyroïde humaine obtenue sur une nécropsie précoce et utilisée à la dilution de 1 000 gammas de protéine/cc de milieu. En outre, la migration des leucocytes de ces malades fut étudiée vis à vis d'extraits surrénaliens et thyroïdiens.

Dix sujets normaux étudiés de la même façon ont eu un index de migration vis à vis de l'extrait parathyroïdien compris entre 0,55 et 1,05.

Le tableau 16 résume nos résultats.

Dans 5 des 8 hypoparathyroïdies idiopathiques, fut notée une inhibition de migration significative vis à vis de l'extrait

TABLEAU 16

| | Dg | PARA-THYROIDE HUMAINE | EXTRAIT THYROIDIEN | CORTICO-SURRENALE |
|---|---|---|---|---|
| 1 PE..... ♂ | Id. Hypopara. | 0,47 | 1,00 | 0,49 |
| 2 NO..... ♂ | " | 0,76 | 1,14 | 0,96 |
| 3 YA..... ♂ | " | 1,10 | 0,60 | 0,55 |
| - id - | | 1,20 | 0,65 | |
| 4 BE..... ♂ | " | 0,36 | 0,59 | 0,25 |
| 5 KA..... ♂ | " | 0,37 | 0,94 | 0,26 |
| 6 LE..... ♂ | " | 0,10 | 0,83 | 0,27 |
| 7 FL..... ♂ | " | 0,79 | | |
| 8 JA..... ♀ | | 0,42 | 1,01 | 1,00 |
| 9 OD..... ♀ | " + insuffisance gonadique | 0,08 | 0,92 | 0,75 |
| 10 1) DE... ♂ | " + Addison's disease + Chronic candidiasis | 0,72 | 0,85 | 0,61 |
| 2) id. | | 0,85 | | |

(les chiffres soulignés correspondent aux réponses témoignant d'une inhibition)

parathyroïdien. Sur ces 5 sujets à réponses positives, 4 répondaient également à l'extrait surrénalien.

L'enfant de 18 mois répondait à la parathyroïde, mais non à la surrénale.

Aucun des 8 cas n'a montré d'inhibition à l'extrait thyroïdien.

La malade présentant en outre une insuffisance ovarienne n'a répondu qu'aux extraits parathyroïdiens.

L'enfant atteint d'Addison idiopathique et de candidose muco-cutanée n'a répondu à aucun des antigènes testés.

3°) Conclusion :

A côté des anticorps antiparathyroïdes, il semble que le TML permette de démontrer l'existence d'une réaction d'immunité cellulaire au cours des hypoparathyroïdies idiopathiques. Cette réaction, médiée par les lymphocytes, a peut-être une part importante dans la destruction de la glande.

D'autre part, il existe probablement un lien entre antigènes surrénaliens et parathyroïdiens, puisque les lymphocytes de ces malades réagissent fréquemment à l'extrait surrénalien, et que le sérum des malades atteints d'Addison idiopathique contient un anticorps antiparathyroïde dans 28 % des cas. L'on ne peut toutefois affirmer qu'il s'agit d'antigénicité croisée, plutôt que d'une maladie à 2 faces dont l'une ou l'autre s'extériorise cliniquement, sur un terrain génétique prédisposé (22)(23)

d) Hypophyse

Les atteintes hypophysaires inflammatoires dûes à une infiltration lymphocytaire sont exceptionnelles. Les cas décrits (63) (64) (104) concernent soit des femmes jeunes, décédées quelque temps après un accouchement normal au terme du tableau habituel des insuffisances antéhypophysaires, soit des sujets âgés.

Un titre élevé d'anticorps antithyroïdiens (104), voire antimuqueuse gastrique (89) a pu être trouvé chez ces patientes. Utilisant le test de consommation du complément, ENGELBERTH et coll.

(104) ont mis en évidence des anticorps antihypophyse dans 18 % des cas sur un groupe de 128 femmes au cours de la semaine suivant la délivrance ; 25 % des femmes ayant ces anticorps présentèrent ultérieurement les signes habituels d'un syndrôme de Sheehan. Il n'existe pas à notre connaissance d'hypophysites animales expérimentales au cours desquelles on ait étudié l'hypersensibilité retardée.

MOULIAS et GOUST ont utilisé le TML en présence d'hypophyse de singe dans 4 cas d'insuffisance antéhypophysaire de l'adulte : 2 femmes jeunes, présentant un syndrôme de Sheehan typique, et 2 hommes de 52 et 68 ans, dont l'insuffisance antéhypophysaire s'était constituée en un an.

Le tableau ci-joint résume nos résultats :

| | Index de migration |
|---|---|
| QU... ♀ | 0,52 |
| BL... ♀ | 0,28 - 0,32 |
| BO... ♂ | 0,39 |
| GE... ♂ | 0,41 |

Il montre une inhibition (I.M. 0,50) dans 3 cas sur 4. Les leucocytes périphériques de 8 sujets normaux, testés simultanément, n'ont pas été inhibés.

Si l'hypersensibilité retardée agit sur les glandes endocrines, l'inverse est également vrai. Les souris naines par déficit hypophysaire présentent une atrophie marquée du thymus, des aires paracorticales, des ganglions et des sinus périartériolaires (115), zones habituellement peuplées par les lymphocytes responsables de l'immunité à médiation cellulaire.

L'injection à la souris au moment de la naissance d'un sérum antihormone de croissance induit l'apparition d'une atrophie du thymus et des tissus lymphatiques périphériques ainsi qu'une abolition des réactions d'hypersensibilité retardée (256). Ces animaux meurent d'un syndrôme superposable à ce que cause la thymectomie néonatale, sauf si l'on prolonge longtemps l'allaitement maternel

## 2°) Anémie de Biermer

### a) Données de la littérature :

L'on ne connait pas d'équivalent animal de la maladie de Biermer. Les données dont l'on dispose en ce qui concerne les perturbations immunitaires dans cette maladie sont donc tirées d'expérimentations pratiquées chez l'homme.

Dans une revue générale récente, GOLDBERG et FUDENBERG (84) analysent les principaux résultats obtenus à ce jour. L'on trouve avec une certaine fréquence dans le sérum de ces malades des anticorps dirigés contre les cellules pariétales gastriques, et plus précisément contre leur fraction cytoplasmique microsomiale. Plus importante semble l'existence d'anticorps dirigés contre le facteur intrinsèque, et qui sont de 2 types : anticorps bloquant le site de liaison de la vitamine B12 au facteur intrinsèque, anticorps se liant au facteur intrinsèque sans bloquer son site actif.

Outre les anticorps circulants, existent des anticorps secrétés par les plasmocytes infiltrant la muqueuse gastrique et retrouvés dans le liquide de tubage, dirigés également contre le facteur intrinsèque (109). En faveur du rôle cytotoxique de certains de ces anticorps, l'on peut retenir l'abaissement du taux du complément chez les malades non encore traités ou présentant une récidive à l'arrêt du traitement (84).

L'immunité cellulaire de ces malades a été peu explorée.

### b) Données personnelles :

Nous avons étudié par le TML 14 cas d'anémie de Biermer, dont le diagnostic fut affirmé par la ponction sternale et le test de Schilling.

Nous avons utilisé comme antigène des extraits de muqueuse gastrique d'agneau (Gastro-Pylose, laboratoires Lyocentre) diluée extemporanément dans du milieu 199 contenant 10 % de sérum de veau foetal. La dilution donnant des réponses significatives fut déterminée à 100 gammas/cc de milieu.

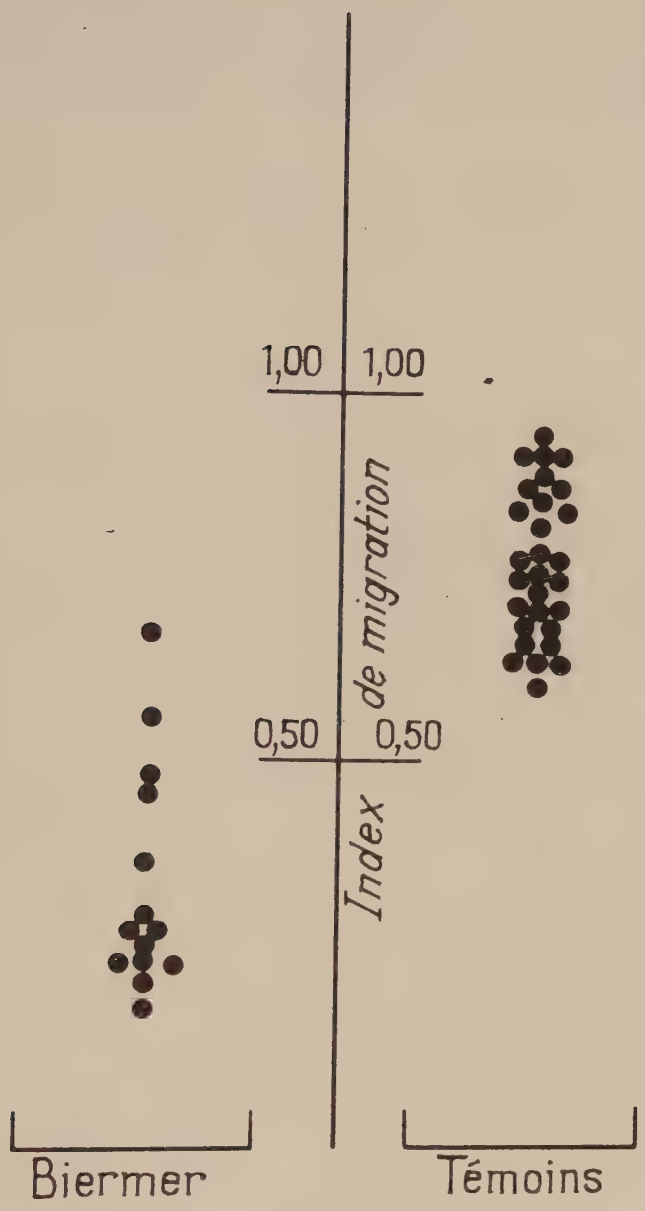



TABLEAU 17

Réponse à l'extrait de muqueuse gastrique d'agneau (100 /cc) dans 15 cas de maladie de Biermer.

Vingt-neuf sujets normaux ou présentant des affections sans liaison avec l'estomac ou le système hématopoïétique présentèrent un index de migration compris entre 0,60 et 0,94 (moyenne = 0,76). Comme lors des essais précédents, nous n'avons considéré comme témoin d'une réaction interprétable que les index de migration inférieurs à 0,55.

Sur les 14 Biermer ainsi étudiés, 13 sont dans ce cas : index de migration moyen = 0,40. Il existe donc une réponse d'immunité cellulaire significative vis à vis de cet antigène (tableau 16).

c) Discussion :

Si certains travaux récents (218) laissent penser que les complexes antigène-anticorps, ou les anticorps eux-mêmes, peuvent jouer chez l'homme un rôle important -cytotoxique- puisqu'en même temps que les poussées anémiques l'on observe une diminution du complément sérique, les réponses d'hypersensibilité retardée ont été peu étudiées au cours de la maladie de Biermer.

Pour Mc GUIGAN et coll. (147), les lymphocytes de ces malades subissent une transformation lymphoblastique significative en présence d'extrait de muqueuse gastrique, de suc gastrique normal et de facteur intrinsèque. L'antigène que nous avons utilisé dans cette étude est très proche des antigènes de la muqueuse gastrique humaine normale et contient, à côté d'extraits cellulaires globaux, du facteur intrinsèque en quantité appréciable.

FIXA et THIELE (73 ) dans 15 cas d'anémie de Biermer, utilisant du facteur intrinsèque (Nordmark) en dilution à 0,5 % dans du milieu TC 199, ont observé 12 fois sur 15 une inhibition significative de la migration des leucocytes en tube capillaire. L'index de migration moyen était de 0,37, alors que, pour les témoins, il était de 0,89. Par contre, utilisant le même antigène dans un test de transformation lymphoblastique, ils n'ont pas observé d'effet mitogène du facteur intrinsèque sur les lymphocytes de ces malades.

BROSTOFF et DONIACH (31 ) signalent d'autre part l'effet inhibiteur de mitochondries hépatiques sur la migration des leucocytes de Biermériens.

Il semble donc exister, au cours de l'anémie pernicieuse, en même temps que divers anticorps dont le rôle n'est probablement pas négligeable, des phénomènes d'hypersensibilité

retardée dirigés contre les cellules de la muqueuse gastrique. L'intensité de l'infiltration lymphomonocytaire à ce niveau est probablement un signe du rôle des cellules lymphoïdes dans l'évolution vers la gastrite atrophique.

### 3°) Lupus et syndrômes lupoïdes

#### 1°) Données de la littérature :

La pathogénie du lupus éruthémateux disséminé (L.E.D.) reste obscure. L'on sait cependant que des phénomènes auto-immunitaires y sont observés avec une grande fréquence. Le principal critère biologique du diagnostic, la mise en évidence de la cellule LE, repose sur un phénomène immunologique : la phagocytose de complexes ADN-anticorps anti-ADN (phénomène de Hazerick). L'on sait également que les glomérulo-néphrites lupiques sont probablement dûes en grande partie à une cytolyse par l'intermédiaire de complexes immuns ADN-anticorps anti-ADN, ce dont témoignent les aspects observés en immuno-fluorescence et l'abaissement du taux de bêta 1 C (C'3) dans le sérum de ces malades. L'aspect auto-immunitaire du désordre observé est renforcé par la découverte d'anticorps lymphocytoxiques dirigés contre les antigènes HL-A du malade.

L'on connaît moins bien les perturbations de l'immunité cellulaire qui peuvent se rencontrer au cours du L.E.D. AZOURY ( 6 ) et JONES ( 111 ) ont pratiqué des tests cutanés sur 35 témoins et 25 malades atteints de L.E.D. Parmi eux, 24 ont eu une intra-dermoréaction positive aux leucocytes homologues, 21 aux nucléo-protéines de thymus de veau, 23 aux histones de thymus de veau, 12 à l'ADN de thymus de veau. Aucun des témoins n'a réagi à cet antigène. DAns les cas où la réaction cutanée fut positive, elle présenta tous les caractères d'une réaction d'hypersensibilité retardée, et se montra en corrélation étroite avec l'existence d'anticorps anti-nucléaires.

TRAYANOVA et coll. (250) apportèrent la preuve de l'action cytotoxique directe des lymphocytes de 10 malades atteints de L.E.D. sur des fibroblastes d'embryons humains de 8 à 12 semaines et sur des cellules de rein foetal de 16 à 24 semaines.

Par le test de transformation lymphoblastique, REINERT (188) et BRIBET-FORETTE (30) au laboratoire du Professeur BERTHAUX ont trouvé une transformation lymphoblastique significative dans 5 cas sur 9 L.E.D. ainsi étudiés.

Pour PATRUCCO, le nombre de positivités observées est un peu plus élevé, mais toujours en corrélation étroite avec l'existence de cellules LE ou d'anticorps anti-nucléaires (178)

2°) Données personnelles :

a) Matériel et méthodes

Nous avons étudié par le TML un certain nombre de maladies lupiques, de syndrômes lupiques iatrogènes et de collagénoses.

Deux antigènes différents furent utilisés :

- ADN de poisson hautement polymérisé (Biostabilex) non débarrassé d'histones, utilisé à la dose de 125 gammas/cc de milieu ;
- ADN extrait de thymus de veau (Worthington Biochem. Corp.) lui aussi à la dose de 125 gammas/cc de TC 199 + 10 % de sérum de veau foetal.

Les leucocytes de sujets témoins furent placés en présence de ces antigènes. Avec l'ADN de poisson, 30 témoins furent réalisés. Il s'agissait soit de sujets présentant une affection sans rapport avec le lupus (15 fois) : grippe, syndrômes dépressifs, méningococcie, cirrhoses alcooliques, tuberculose pulmonaire, kyste hydatique, insuffisance surrénale tuberculeuse.

L'index de migration des leucocytes de ces sujets va de 0,62 à 1,05, avec un index de migration moyen (I.M.M.) de 0,83.

Avec l'ADN de thymus de veau, le même groupe témoin composé de 23 sujets avait un I.M. compris entre 0,63 et 1,15, pour un I.M.M. de 0,94.

L'on peut donc considérer, quelque soit l'antigène utilisé, que la réaction à l'ADN manifeste une inhibition significative certaine lorsque l'I.M. est inférieur ou égal à 0,55.

b) Résultats dans le L.E.D.

Avec l'ADN de poisson, nous avons étudié 27 lupiques, certains tests ayant été refaits à plusieurs reprises, avant puis sous traitement ou à distance de la poussée initiale.

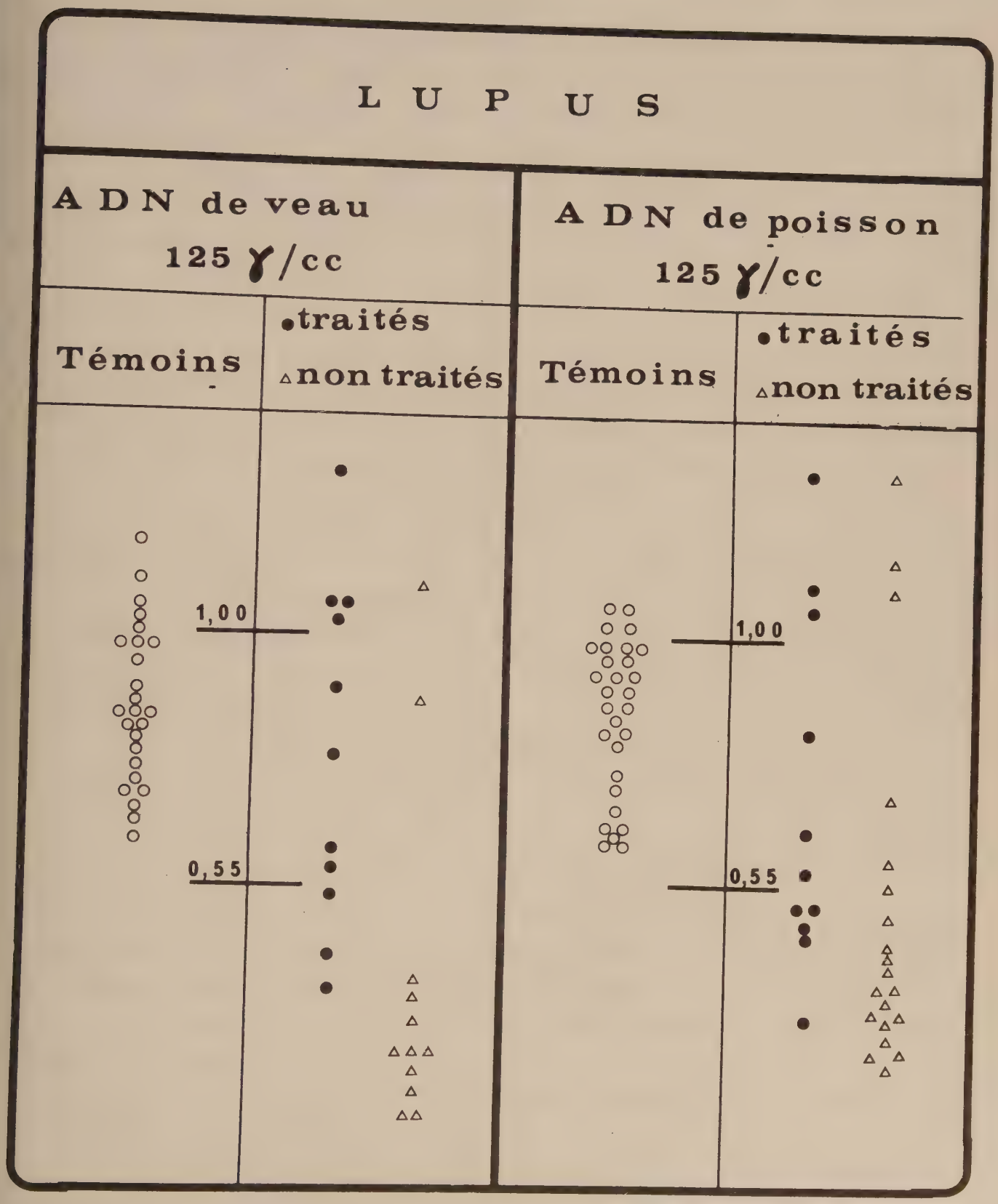

LUPUS
ADN de veau
125 γ/cc
ADN de poisson
125 γ/cc
Témoins
•traités
△non traités
Témoins
•traités
△non traités
1,00
0,55
1,00
0,55

TABLEAU 18

Deux groupes se dégagent :

- Le premier correspond aux tests pratiqués chez des malades présentant au moment du test des cellules LE en grand nombre, au moins à 2 reprises lors de 3 examens rapporchés, que ce fait soit associé ou non à l'existence concomitante d'une poussée.

Vingt tests répondent à ces critères :

. 3 fois, l'I.M. allait de 0,55 à 1,08. Il n'y avait pas de réponse lymphocytaire à l'ADN.

. 15 fois, l'I.M. allait de 0,23 à 0,55, témoignant d'une inhibition nette.

. 2 fois, l'I.M. était supérieur à 1,10 (1,12 et 1,30 respectivement). Ces 2 cas peuvent correspondre à l'augmentation de la migration, constatée chez l'animal pour de faibles doses d'antigène. L'on peut donc les ranger dans le cadre des réponses positives à l'ADN.

Ainsi, sur 20 cas, observe-t-on, en l'absence de traitement, 85 % de réponses positives et 15 % de réponses négatives.

- Le second groupe comprend les malades traités par corticoïdes ou immuno-dépresseurs au moment du test, ainsi que ceux qui ne présentaient alors aucun signe d'évolutivité recente ; 11 tests ont été ainsi pratiqués :

. 5 ont un I.M. allant de 0,29 à 0,52.

. 5 ont un I.M. entre 0,55 et 1,10.

. 1 a un I.M. de 1,30.

Donc, 6 fois sur 11, l'on peut considérer qu'il existe encore une réponse lymphocytaire significative à l'ADN.

L'I.M.M. des sujets non traités est de 0,34, celui des malades traités de 0,64, celui du groupe témoin de 0,83. Les 3 groupes semblent donc séparés de façon assez nette.

Avec l'ADN de veau, nous avons pratiqué 24 tests correspondant à 22 malades.

- 13 tests ont été faits en l'absence de traitement, lors d'une poussée évolutive.

Onze fois, l'I.M. allait de 0,14 à 0,38, l'inhibition ainsi manifestée étant plus nette qu'avec l'ADN de poisson.

Deux fois, l'I.M. était de 0,78 et 1,05, témoignant d'une réponse négative.

L'I.M.M. de ce groupe est de 0,35.

- 11 tests ont été faits chez des sujets traités par corticoïdes ou immuno-dépresseurs, ou lors de la régression des signes cliniques et, en tous cas, en l'absence de cellules LE au moment du test :

. 3 fois l'I.M. allait de 0,36 à 0,52.

. 1 fois l'I.M. était de 1,30.

. 7 fois l'I.M. était compris entre 0,55 et 1,10.

Donc, 4 réponses positives sur 11 tests.

L'I.M.M. de ce groupe est de 0,54.

Ainsi, que l'antigène utilisé soit de l'ADN de poisson ou de l'ADN de mammifère, la positivité du test semble plus fréquente lorsqu'on découvre au moment du test des cellules L.E. ou qu'on se trouve en présence d'une poussée évolutive. Cependant, le traitement corticoïde ou immuno-dépresseur ne négative pas toujours le test. L'une des malades en particulier recevait au moment du test du sérum antilymphocyte et gardait un I.M. à 0,45 en présence d'ADN de poisson, à 0,42 en présence d'ADN de veau.

Les I.M. obtenus correspondent à des mesures faites chaque fois au moins en double avec chacun des antigènes. D'une chambre de migration à l'autre, l'I.M. n'a jamais varié de plus de 10 %. Ce système semble donc particulièrement intéressant, puisque les positivités obtenues sont constantes pour une même mesure, et semblent suivre d'assez près le profil évolutif de la maladie.

c) Syndrômes lupiques iatrogènes

Nous avons pu en étudier 3 cas.

Le premier était un enfant (cas LAS...) recevant des hydantoïnes pour un petit mal épileptique. Nous l'avons étudié une première fois alors qu'il s'améliorait sous traitement. Son I.M. était de 0,56 à l'ADN de poisson, de 0,90 à l'ADN de mammifère. Lors d'une rechute ultérieure, en l'absence de corticothérapie, nous avons refait un TML, avec cette fois des résultats significatifs : I.M. à 0,31 et 0,34 respectivement. La Phénytoïne sodique -seule forme soluble directement utilisable dans le test- ne nous a pas donné de résultats interprétables.

Chez un autre malade (cas GIR...) (malade du Professeur GODEAU) le syndrôme lupique s'était déclenché alors qu'il recevait

depuis plusieurs années du Pronestyl et du Dihydan. Le TML était chez lui significatif à l'ADN (I.M. de 0,29 et 0,43 respectivement). La Procaïnamide soluble par contre, pas plus que la Phénytoïne sodique, n'entraînaient d'inhibition significative de la migration.

Le dernier cas concerne une maladie de Wilson traitée à la D-Pénicillamine. Son étude a été déjà publiée par ailleurs (95) (96). En présence d'ADN, et avant tout traitement, l'I.M. était de 0,45 et 0,28. Chez lui cependant, nous avons pu démontrer l'existence d'une inhibition de migration nette en présence de D-Pénicillamine soluble (D.P.) (I.M. = 0,29).

A l'opposé, 2 autres maladies de Wilson traitées par la Pénicillamine, mais ne présentant pas de syndrôme lupique, ne réagissaient pas à la D.P. Il en allait de même pour 4 L.E.D. ; 12 autres témoins présentant des affections diverses (4 polyarthrites rhumatoïdes, 4 sujets normaux, 2 addisoniens, 2 péricardites) n'avaient aucune réaction à la D.P.

Ainsi, dans ce cas, l'on pouvait penser que la D.P. avait peut-être causé une perturbation de l'immunité cellulaire sur un terrain favorable à l'éclosion d'un syndrôme lupique.

d) Collagénoses

Nous entendons sous ce titre les maladies telles que la polyarthrites rhumatoïdes, sclérodermies ou polymyosites. L'on sait que dans de nombreux cas l'on peut trouver des cellules LE, voire observer la survenue d'un syndrôme lupique authentique. Nous en rapprocherons d'autres maladies où l'on peut rencontrer avec une fréquence dépassant la coïncidence des cellules LE et/ou des anticorps anti-nucléaires en immuno-fluorescence. Le tableau 18 indique la répartition des cas que nous avons pu ainsi étudier.

Nous avons pratiqué le TML au cours de 5 polyarthrites rhumatoïdes. La présence de cellules LE et de facteur anti-nucléaire est notée dans un seul cas (n° 3, LEV...). Des inhibitions significatives à l'ADN de poisson et/ou de veau ont été retrouvées non seulement dans ce cas, mais dans 2 autres (n° 1, VEL...) (n° 5, HOU...). Le cas n° 5 n'avait pas cependant les caractères cliniques habituels d'une polyarthrite rhumatoïde, mais peut-être ceux que l'on rencontre dans les polyarthrites lupiques, avec une évolution très inflammatoire et non destructrice, malgré la négativité des recherches de cellules

Tableau 19

| CAS | CELLULE LE | FACTEUR ANTI-NUCLEAIRE IF | TML ADN DE POISSON | TML ADN DE VEAU | DIAGNOSTIC |
|---|---|---|---|---|---|
| 1 - VEL... | - | - | 0,42 | - | Polyarthrite rhumatoïde |
| 2 - MIR... | - | - | 0,88 | - | " " |
| 3 - LEV... | + + | 1/500 | 0,63 | 0,35 | " " |
| 4 - SUZ... | - | - | 0,75 | 0,72 | " " |
| 5 - HOU... | - | - | 0,53 | 0,49 | Polyarthrite inflammatoire (Latex +++) |
| 6 - BRO... | - | - | 0,85 | - | Périartérite noueuse |
| 7 - BAF... | - | - | 0,66 | 0,47 | " " |
| 8 - MON... | - | - | 0,51 | - | Dermatomyosite en poussée |
| 9 - MAR... | - | 1/1 000 | 0,53 | 0,48 | Polymyosite + polyarthrite rhumatoïde (Waaler-Rose +++) |
| 0 - CAM... | - | - | 0,52 | - | Sclérodermie |
| 1 - SEN... | - | - | 0,80 | 0,62 | Sd. de Raynaud |
| 2 - KAL... | - | - | 1,24 | - | Myasthénie |
| 3 - LUC... | - | - | 0,67 | 1,03 | " |
| 4 - PRO... | - | - | 0,90 | 0,92 | " |
| 5 - SEN... | - | - | 0,80 | 0,62 | " |
| 6 - ABC... | + | - | 1,36 | 0,50 | Sd. de Wegener |
| 7 - PLE... | - | 1/500 | 0,29 | - | Biermer |
| 8 - CHO... | +++ | - | 0,41 | - | Goutte |
| 9 - JAC... | - | 1/500 | 0,97 | 0,48 | Hépatite chronique active |

L'interprétation de ces réponses positives au TML vis à vis de l'ADN est donc délicate. S'agit-il de malades qui, peut-être, vont faire une maladie lupique, puisqu'une positivité du TML peut se voir en l'absence de cellules LE dans les L.E.D. dûment authentifiés auparavant ? Ou bien doit-on -ce qui est actuellement nécessaire- considérer encore cette réponse comme un épiphénomène ? L'étude de cas similaires devrait peut-être permettre de trancher.

Nous avons également étudié 2 périartérites noueuses ; 1 des 2 malades a répondu à l'ADN de veau, alors qu'il n'avait ni cellules LE ni facteur anti-nucléaire.

Une malade atteinte de polymyosite présentant en outre de longue date une polyarthrite inflammatoire avec Waaler-Rose constamment positif avait au moment du test des anticorps anti-nucléaires au 1/1000 (cas n° 9, MAR...). En TML, ses leucocytes réagissaient à la fois à l'ADN de poisson et à l'ADN de veau. Malgré l'absence de cellules LE et de facteur antinucléaire, une dermatomyosite en poussée réagissait à l'ADN de poisson (cas n° 8, MON...). Nous n'avons rencontré qu'une sclérodermie (cas n° 10, CAM...). Elle réagissait à l'ADN de poisson, sans avoir de cellules LE ou de facteur anti-nucléaire. Une malade atteinte de syndrôme de Raynaud (cas n° 11, SEN...) apparemment isolé n'a pas réagi à l'ADN. Aucune des myasthénies étudiées ne présentait de cellules LE ou de facteur anti-nucléaire ; aucune n'a réagi à l'ADN en TML. Reste un dernier groupe assez hétérogène sur le plan du diagnostic clinique, mais présentant une anomalie commune : l'existence, au moment du test, de cellules LE ou de facteur anti-nucléaire. Il comporte un syndrôme de Wegener, une maladie de Biermer, une goutte et une hépatite chronique active. Les 4 malades composant ce groupe répondaient tous soit à l'ADN de poisson, soit à l'ADN de veau, soit aux 2.

Sur les 11 malades ayant présenté une réponse positive à l'ADN, 6 avaient soit des anticorps anti-nucléaires, soit des cellules LE au moment du test. L'interprétation des réponses, qu'elles soient positives ou négatives, pose des problèmes que seules la surveillance de ces malades et la répétition du test chez des malades similaires permettront de résoudre.

3°) Conclusions :

Dans la maladie lupique, la réactivité à l'ADN semble très fréquente en l'absence de traitement corticoïde et lors des poussées. L'absence de poussée évolutive ou une corticothérapie ne négativent pas obligatoirement ce test, alors même que les cellules LE ont disparu.

Une réaction d'hypersensibilité retardée à l'ADN semble donc très probable au cours du L.E.D. Son interprétation n'est cependant pas claire. Ce peut être le signe d'une action auto-agressive des lymphocytes de ces malades vis à vis de leurs propres ADN, conduisant à un tableau proche de la maladie greffe contre hôte, et l'on a pu évoquer certaines similitudes entre les phases terminales de ces maladies. Mais l'on peut aussi y voir le signe d'une réaction d'immunité cellulaire vis à vis d'un ADN modifié, la cause réelle de la maladie reposant plutôt dans le pourquoi de cette modification, qui n'aurait pas, au départ, de support immunitaire, mais plutôt génétique et/ou viral : l'exemple des souris NZB orienterait davantage dans cette direction.

Si le TML n'est sûrement pas la clé de la physio-pathologie du L.E.D., l'on peut cependant admettre qu'il pourrait avoir certaine valeur d'appoint diagnostique.

4°) Applications diverses

1°) Maladies virales - Données personnelles

1 - Sujets normaux :

L'on a signalé chez la souris l'apparition d'une immunité cellulaire au virus vaccinal injecté, décelable par le TML (68) (102). Cependant, l'inhibition obtenue n'est pas très significative, et la différence avec les témoins non vaccinés peu importante.

Chez l'homme, nous avons étudié 2 types de maladies virales : les oreillons et la rougeole. Nous avons essayé d'utiliser le virus vaccinal de l'Institut Pasteur, mais sans résultat, car les procédés de préparation nécessaires à sa conservation le rendent toxique pour les lymphocytes in vitro. Avec l'antigène fixant le complément utilisé pour le séro-diagnostic des oreillons (Institut

Pasteur) chez 65 adultes normaux, nous avons observé 58 fois un I.M. inférieur à 0,50, en utilisant une dilution au 1/5ème.

Nous ne pouvons affirmer que tous ont eu les oreillons ; de même, l'on ne peut dire pourquoi 7 sujets n'ont pas répondu à cet antigène en dehors de toute corticothérapie.

En utilisant le vaccin anti-rougeoleux, nous avons étudié, avec R. MOULIAS et J. HARPEY, 3 groupes de malades :

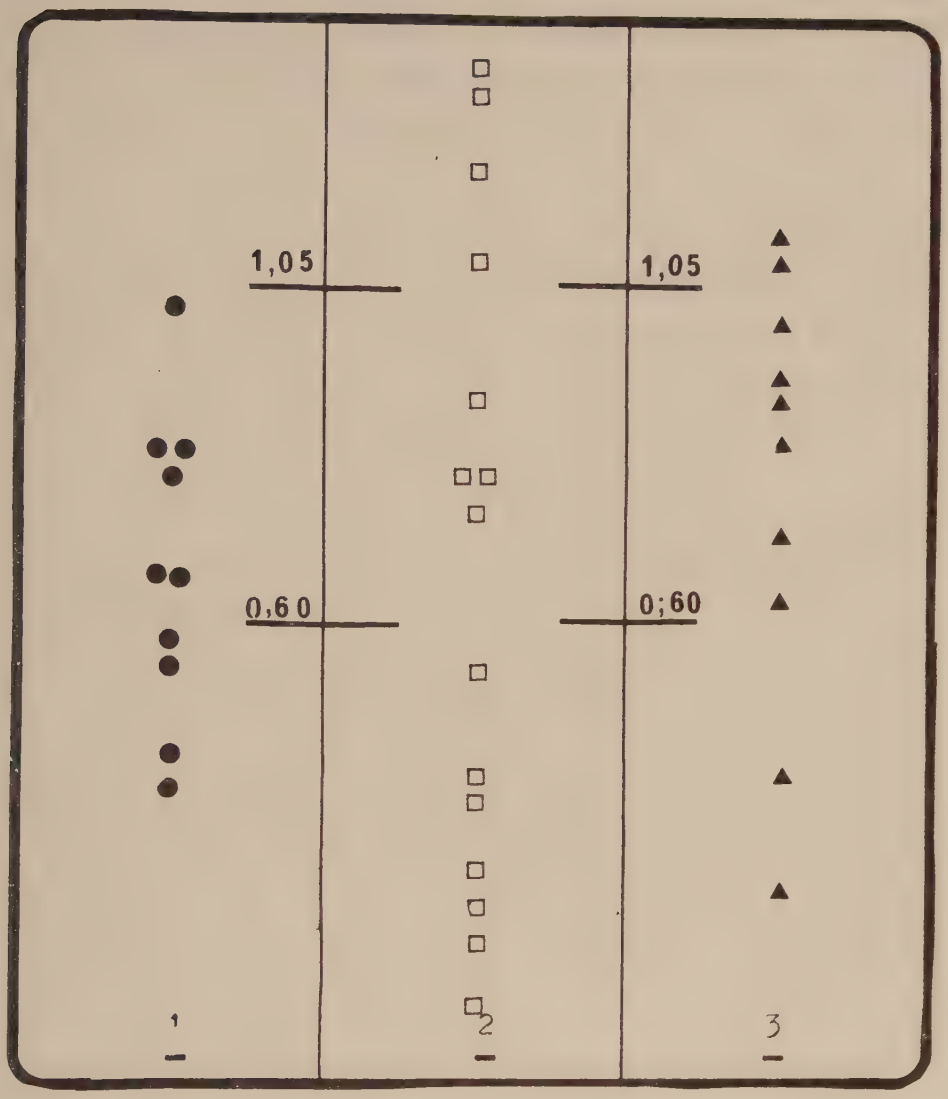
- des adultes (10 cas) ayant fait une rougeole dans l'enfance ;
- des enfants de moins de 12 ans, dont la rougeole remontait à plus de 3 mois et moins de 2 ans (15 cas) ;
- des enfants n'ayant pas encore fait de rougeole évidente, ou en cours d'éruption (10 cas).

L'antigène utilisé (Rouvax ; Institut Mérieux) était conservé à + 4°c, à l'abri de la lumière, et dilué extemporanément dans du milieu TC 199 contenant 10 % de sérum de poulain ; pour aboutir à une dilution finale de 1/50ème. Des dilutions au 1/10ème et au 1/100ème ont également été étudiées, mais ne nous donnèrent pas de meilleur résultat.

Le groupe des enfants n'ayant pas eu la rougeole nous a servi de groupe témoin. Il comporte 9 enfants et 10 tests. Six fois, il s'agissait d'enfants n'ayant présenté aucun signe d'exanthème morbilleux. Cinq sur 6 ont un I.M. compris entre 0,63 et 1,00. Le sixième a un I.M. à 0,20 ; il n'est pas impossible que cet enfant ait fait une rougeole infra-clinique ou fruste, passée inaperçue. Trois cas correspondent à des rougeoles en cours d'exanthème. L'un a un I.M. à 0,74, un autre à 1,04. Le dernier a eu 2 tests successifs : le premier au 3ème jour de l'exanthène, avec un I.M. à 1,06, le second au 7ème jour, avec un I.M. à 0,40. D'une façon peut-être encore un peu précaire, nous avons à partir de ces données fixé la zone correspondant aux réponses négatives entre 0,60 et 1,05.

Parmi les enfants ayant eu la rougeole (15 cas), depuis plus de 3 mois, nous n'avons observé que 4 réponses négatives. Encore l'un de ces cas correspondait-il à un enfant atteint de maladie de Wilson et traité par le D-Pénicillamine. Onze fois, nous

TABLEAU 20




T.M.L. AU ROUVAX

1- Sujets adultes normaux

2-Enfants ayant fait une rougeole 3 mois avant le test au moins

3-Enfants n'ayant pas encore fait la rougeole ou se trouvant en cours d'évolution.

nous avons obtenu des réponses positives. Sept fois, l'I.M. était inférieur à 0,60, 4 fois supérieur à 1,05. Ceci semble renforcer notre hypothèse quant à la zône de négativité, comprise entre 0,60 et 1,05.

Dix adultes ont également été testés, tous ayant eu, dans l'enfance, une rougeole certaine. Nous avons dans ce groupe 4 réponses positives, ce qui est moins important que les résultats obtenus avec l'antigène ourlien, mais témoigne cependant d'une relative stabilité de l'immunité cellulaire vis à vis du virus rougeoleux.

Ainsi, la plupart des enfants établissent une immunité cellulaire au virus rougeoleux. Cette immunité,cependant, ne s'établit pas immédiatement et semble nécessiter au moins 10 jours avant d'apparaître. Dans certains cas, cette durée peut être plus longue ; enfin, tous les enfants n'acquièrent pas une immunité cellulaire vis à vis du virus rougeoleux.

Encore doit-on se souvenir que le diagnostic de la rougeole est parfois erroné, car certains exanthèmes peuvent relever d'une autre cause.

2 - Maladie de Van Bogaert :

Dans la leuco-encéphalite-sclérosante subaigue (LESS) l'on sait que le virus persiste dans le tissu cérébral après l'infection rougeoleuse. Le taux des anticorps anti-virus morbilleux s'élève de façon souvent considérable. L'on a émis l'hypothèse que la maladie était dûe à un déficit d'acquisition de l'immunité cellulaire, qui pourrait permettre le développement du virus et son effet sur la substance blanche.

Nous rapportons ici les premiers résultats d'une étude menée avec R. MOULIAS, Ph. REINERT et J. HARPEY sur 6 cas de maladie de Van Bogaert, concernant l'immunité cellulaire (tableau 20).

Les cas n° 2, 3, 4, 5 et 6 recevaient les traitements habituels de la maladie de Van Bogaert. Leur I.M. vis à vis du Rouvax dilué au 1/50ème est toujours dans la zone négative. Aucun de ces enfants n'a présenté par ailleurs de transformation lymphoblastique au cours du TTL vis à vis du même antigène (Ph. REINERT, données non publiées). Dans ces cas, l'on peut donc dire qu'il existe un déficit de l'immunité cellulaire vis à vis du tissu rougeoleux.

Tableau 21

| N° | NOM | RESULTAT TML | NOTES |
|---|---|---|---|
| 1 | DEL... | 1,32 | |
| | " | 0,80 | |
| | " | 0,17 | Après transfusion de lymphocytes |
| | " | 0,49 | |
| | " | 0,49 | Amélioration clinique |
| | " | 0,41 | |
| 2 | MET... | 0,78 | |
| | " | 0,85 | |
| 3 | BAC... | 0,81 | |
| 4 | PEN... | 0,73 | |
| 5 | NAV... | 0,72 | |
| | " | 0,88 | |
| 6 | CHE... | 0,75 | Traité à l'Amantadine |

T.M.L. AU ROUVAX
Dans 6 cas de maladie de Van Bogaert

Le cas n° 1 (enfant DEL...) est un malade de Ph. REINERT, suivi dans le service du Docteur LAJOUANINE. Au début de sa maladie, l'I.M. vis à vis du Rouvax était de 1,32, puis de 0,80. Devant l'aggravation de l'état de cet enfant et l'échec des thérapeutiques habituelles, l'on décida de pratiquer une transfusion de lymphocytes. Le typage HLA des lymphocytes de la mère et de l'enfant fut réalisé par le Docteur HORS (service du Professeur DAUSSET) et l'isolement et la transfusion des lymphocytes maternels par le Docteur BUSSEL (centre de Transfusion de l'hôpital Saint-Louis). Huit jours après, l'enfant DEL... présentait un I.M. à 0,17 vis à vis du Rouvax au 1/50ème ; 4 TML pratiqués à un mois d'intervalle chaque fois montrèrent la persistance de la réaction d'inhibition de la migration en même temps que se positivait son test de transformation lymphoblastique au Rouvax. Simultanément se dessinait une amélioration clinique : actuellement, la spasmodicité a régressé ; l'enfant s'alimente seul et reconnaît sa mère, tandis qu'à l'EEG le rythme alpha réapparaît.

Il semble donc que la maladie de Van Bogaert s'accompagne d'un déficit de l'immunité cellulaire au virus rougeoleux. La transfusion, à l'un de ces malades, de lymphocytes réagissant au Rouvax, réalise une immunothérapie adoptive par transfert de cellules réactives.

Des travaux sont en cours avec les Docteurs HORS, BUSSEL, CATHALA, REINERT, HARPEY et MOULIAS pour étayer cette hypothèse.

## 2°) Immunologie rénale - Transplantations

L'on a pu démontrer (232) chez l'homme, au cours de glomérulo-néphrites, l'existence d'une réaction d'hypersensibilité retardée aux antigènes streptococciques, avec une réaction d'inhibition en TML et une augmentation de la synthèse d'ADN en T.T.L. Ni les immuno-suppresseurs, ni la binephrectomie ni les allogreffes ne diminuent cette réponse, qui pourrait peut-être rendre compte de certains rejets de reins histocompatibles (246)(16)

L'étude du TML dans l'immunité de greffe peut apporter certaines précisions. Chez l'animal, il semble que la réaction d'inhibition n'apparaisse qu'après la greffe (3 ) (156). De même, dans la réaction greffe contre hôte, l'inhibition de la migration des cellules spléniques de l'animal en présence de cellules du donneur

est d'autant plus intense que la splénomégalie, signe majeur dans ces réactions, est plus importante (255). Chez l'homme, l'on a pu démontrer qu'un receveur d'une greffe de peau montrait une inhibition de migration significative en présence des lymphocytes du donneur, mais seulement s'il y avait eu un contact immunisant. Il n'y a pas d'inhibition si le sujet étudié n'a pas été en contact avec des antigènes HLA incompatibles (66)

Au cours des transplantations rénales, l'on a également pu démontrer la survenue d'une inhibition aux antigènes rénaux du donneur en parallèle avec une réaction de rejet (207).

Dans les transplantations hépatiques, l'on a mis en évidence l'apparition au cours des crises de rejet d'une inhibition de la migration des lymphocytes du receveur en présence d'extrait de foie humain foetal ou d'extraits de leucocytes du donneur (61)

L'activité immuno-suppressive du sérum anti-lymphocytaire (SAL) enfin est fort bien corrélée avec la propriété, récemment démontrée (167), d'inhiber la migration des leucocytes du sang humain, jusqu'à une dilution de 1/20.000.

3°) Autres applications

ANDERSEN et BENDIXEN (5) ont utilisé le TML dans des cas de tumeur mammaire. En utilisant comme antigène des extraits de tumeur mammaire autologue, ils ont trouvé 8 fois une inhibition sur 22 cas étudiés, démontrant ainsi une réaction d'hypersensibilité retardée aux extraits tumoraux, alors que des extraits de tissus normaux n'entraînaient pas d'inhibition. Lors des cas de tumeur bénigne étudiés, il n'existait pas d'inhibition. L'on ne peut cependant encore, d'après les auteurs, en tirer une signification pronostique. Il en va de même avec certains neuroblastomes (72)(98) Dans les rectocolites hémorragiques, l'on a démontré (231) l'existence d'une réaction d'H.S.R. aux extraits de colon humain foetal O Rh négatif. Ce type de réaction n'existe pas dans la maladie de Crohn (15)(17).

Au cours des allergies de type réaginique, BROSTOFF et DONIACH ont également démontré, chez des sujets atteints de "summer hay fever" une réaction d'H.S.R. aux extraits de pollen (32)

utilisés (33). Ils en concluent que l'allergie réaginique nécessite, pour se manifester, la présence de T-lymphocytes.

GIRARD (80) (81) utilisant ce test dans les allergies pénicilliniques, signale quelques difficultés techniques que nous avons également rencontrées (nécessité de ne pas avoir trop de globules rouges, et d'avoir un rapport lymphocytes/monocytes proche du physiologique). Pour lui, il n'existe aucune corrélation entre le titre des anticorps anti-pénicilline (recherchés par la technique d'hémagglutination) et l'index de migration. Par contre, le TML lui semble, à quelques exceptions près, bien corrélé avec le nombre de cellules formant rosettes dans la technique d'immuno-cyto-adhérence.

FLAD et coll. (74) (75) démontrent enfin chez le cobaye l'existence de manifestations allergiques à l'insuline chez le cobaye, associée à une inhibition de migration des leucocytes démontrée par un test d'inhibition de la migration des macrophages. De telles données pourraient être utiles à l'analyse des cas de résistance à l'insuline chez l'homme.

Certaines maladies neurologiques semblent entrer dans le cadre des maladies auto-immunes. Le modèle expérimental de l'encéphalomyélite allergique expérimentale. PATERSON et DAVID (51) ont utilisé ce test dans ce cadre, en utilisant comme antigène un broyat cérébral frais. L'existence d'une réaction d'hypersensibilité retardée se manifeste par une inhibition de migration, qui n'a aucune corrélation avec la présence ou l'existence d'anticorps fixant le complément. Pour HUGHES et coll. (103) des cobayes sensibilisés à la protéine basique encéphalitogène et présentant une encéphalomyélite aigue présentent également des réactions nettement positives par le test d'I.M.M. De plus, ce test est en excellente corrélation avec la diminution de la migration électrophorétique des cellules d'exsudat péritonéal de ces animaux en présence du même antigène. Chez l'homme, BARTFELD et ATOYNATAN (10) signalent, sur 15 cas de sclérose en plaques, une inhibition significative de la migration dans 6 cas, correspondant à des multiloculoses en évolution.

Nous avons nous même entrepris cette étude en utilisant comme antigène un broyat de nerf périphérique humain dans du milieu TC 199 contenant 10 % de sérum de poulain. Les premiers résultats que nous avons pu obtenir confirment les données de BARTFELD et ATOYNATAN dans les scléroses en plaques. Il nous semble aussi

exister fréquemment une réaction d'hypersensibilité retardée au cours de certaines polyradiculonévrites du syndrôme de Guillain et Barré.

Nous ne pouvons donner actuellement de résultats établis.

L'on a enfin signalé que le T.M.L. donnait des résultats intéressants dans les cirrhoses alcooliques habituelles (94) avec un extrait de foie humain, dans les cirrhoses biliaires primitives avec des microsomes hépatiques obtenus par ultra-centrifugation (31) ; au cours de la maladie de Gougerot-Sjogren, un broyat de glandes salivaires humaines normales a permis à certains d'observer une inhibition de la migration des lymphocytes des malades (212).

*

*  *

Ainsi, les applications du T.M.L. sont déja nombreuses. Il semble être d'un appoint précieux tant dans l'étude de l'auto-immunité, que dans la surveillance de la tolérance des transplantations, dans la recherche d'une réaction d'immunité cellulaire aux tumeurs, et dans l'investigation des déficits immunitaires.

# CONCLUSIONS

L'immunité humorale peut maintenant être explorée in vitro de multiples façons chez l'homme. L'immunité cellulaire est d'approche plus délicate, nécessitant toujours la manipulation de cellules fragiles. Jusqu'à ces dernières années chez l'homme, il n'existait pas de techniques simples permettant son étude. C'est chez l'animal que fut d'abord élaboré un test in vitro ou la réaction antigène-lymphocyte responsable d'hypersensibilité retardée était mise en évidence par l'inhibition de la migration des macrophages. Il est maintenant établi que cette inhibition est due à la sécrétion par les lymphocytes d'une substance soluble : le M.I.F. (Migration inhibitory factor). Il fait partie d'une catégorie plus vaste de médiateurs non immunoglobuliniques de l'immunité cellulaire : les lymphokines.

Chez l'homme, les premiers essais s'adressaient à des biopsies d'organes lymphoïdes technique difficilement maniable de façon habituelle.

Le test en 2 temps (incubation des lymphocytes avec l'antigène, puis prélévement du surnageant acéllulaire que l'on met en présence de macrophages) a surtout l'intérêt de démontrer l'existence des lymphokines chez l'homme. Par cette technique nous avons pu voir, avec R. MOULIAS, A. DEVILLECHABROLLE et E. DIXMIER, que le M.I.F. était probablement un peptide de faible poids moléculaire (environ 10.000) porté passivement par l'albumine.

Après SØBORG et BENDIXEN, nous avons mis au point dans le laboratoire du Professeur BERTHAUX, un test d'immunité cellulaire in vitro s'adressant aux cellules blanches du sang circulant humain : le T.M.L. (Test de migration des leucocytes). Sous réserve d'une technique parfois délicate, il nous a donné d'excellents résultats, et semble utilisable dans 3 directions principales.

Dans les maladies "auto-immunes" (ou comportant fréquemment des perturbations immunitaires) tout d'abord.

Au cours d'affections endocriniennes, nous avons pu noter une inhibition significative de la migration des leucocytes 8 fois sur

20 thyroïdites, 12 fois sur 24 hyperthyroïdies, 12 fois sur 20 myxoedèmes idiopathiques avec un extrait thyroïdien bovin. Avec des microsomes thyroïdiens humains, des réponses positives furent observées 4 fois sur 13 hyperthyroïdies, 6 fois sur 13 thyroïdites et 9 fois sur 11 myxoedèmes primitifs. Les myxoedèmes idiopathiques semblent se diviser en 2 groupes : celui ou l'on trouve à la fois des anticorps antithyroïdiens et une réponse d'immunité cellulaire, et celui ou l'on n'observe aucune des 2 anomalies.

Dans les insuffisances surrénales idiopathiques, nous avons observé 10 fois sur 12 une réponse d'inhibition, à un extrait de surrénale de singe.

Au cours des anémies de Biermer, une réaction lymphocytaire significative à l'extrait de muqueuse gastrique existait 13 fois sur 14 cas.

Dans la maladie lupique, une réponse analogue existait 17 fois sur 20 avec l'A D N de poisson, 11 fois sur 13 avec l'A D N de mammifère en l'absence de traitement.

La corticothérapie ne négative pas toujours le test. Au cours d'un syndrôme lupique apparu lors d'un traitement à la D-pénicillamine, nous avons trouvé, outre une réactivité significative à l'A D N, une réponse d'hypersensibilité retardée à la D-pénicillamine. Au cours de diverses collagénoses, la positivité du T M L semble liée plutôt à la présence de cellules L E.

Certaines maladies virales semblent entraîner une immunité cellulaire stable. Dans la maladie de Van Bogaert (leuco- encéphalite sclérosante subaiguë) post-morbilleuse, nous avons pu démontrer l'inexistence de l'immunité cellulaire au virus.

Les déficits de l'immunité cellulaire peuvent donc être détectés par le T M L et peut-être traités par des transfusions de lymphocytes ou de facteur de transfert.

Certains auteurs ont également utilisé le T M L pour étudier les réactions de rejet de greffe. D'autres ont étudié l'immunité cellulaire vis à vis de tumeurs autologues.

Ainsi, les champs d'application du T M L semblent nombreux. Avec ROSENBERG et DAVID, SØBORG et BENDIXEN, l'on peut estimer qu'il s'agit d'un test simple, permettant l'étude in vitro de l'immunité cellulaire chez l'homme.

# B I B L I O G R A P H I E


1 - AALUNDO.
The leucocyte migration test in the bovine and porcine specie. Investigations on mycobacterial infections.
Scand. Soc. Immunol., 1970, to be published

2 - ADMAS D.E., BIESECKER J.L. , KOSS L.G.
The differentiation of mononuclear phagocytes : in vitro effects of lymphokines.
Fed. Proc., 1970, 29, 359 Abs

3 - AL ASKARI S., DAVID J., LAWRENCE H.S., THOMAS L.
In vitro studies on homograft sensitivity.
Nature, 1965, 205, 4974, 916-7.

4 - AMOS H.E., LACHMANN J.P.
The immunological specificity of a macrophage inhibition factor
Immunology, 1970, 18, 269-78.

5 - ANDERSEN V., BENDIXEN G., SCHIØDT T.
An in vitro demonstration of cellular immunity against autologous mamary carcinoma in man. Preliminary report.
Acta Med. Scand., 1969, 186, 101-103.

6 - AZOURY F., JONES M., DERBES V., GUM O.
Intradermal tests and antinuclear factors in S.L.E. A comparative study.
Ann. Int. Med., 1966, 65, 1221-5.

7 - BARTFELD H., KELLY R.
Mediation of delayed hypersensitivity by peripheral blood lym hocytes in vitro and by their products in vivo and in vitro, morph logy of in vitro lymphocyte macrophage interaction.
J. Immunol., 1968, 100, 1000-1005.

8 - BARTFELD E.H., ATOYNATAN T., KELLY R.
Delayed hypersensitivity studies with a modified capillary migration culture system.
Transplantation, 1969, 7, 242-5.

9 - BARTFELD H., ATOYNATAN T.
Cellular immunity. Activity and properties of human migration inhibitory factor.
In Arch. Allergy, 1970, 38, 5, 549-53.

10 - BARTFELD H., ATOYNATAN T.
In vitro delayed (cellular) hypersensitivity in multiple sclerosis to central nervous system antigens
In Arch. Allergy, 1970, 39, 361-7.

11 - BASTENIE P.A., NEVE P., BONNYNS M., VANHAELST L., CHAILLY P.
Clinical and pathological significance of asymptomatic atrophic thyroïditis. A condition of latent hypothyroïdism.
Lancet, 1967, 1, 915.

12 - BASTENIE P.A., HAYEZ F., VAN HAELST L.
Facteurs génétiques dans les thyroïdites auto-immunitaires
Journées endocrinol. Pitié, (Paris), 1969, Expansion scientifique française, 155-61.

13 - BEIERWALTES W.H., DOSSON V.N., WHEELER A.H.
Thyroïd antibodies in families of cretins.
J. Clin. Endocr., 1959, 19, 179-82.

14 - BEIERWALTES W.H., NISHIYAMA R.H.
Dog thyroïditis : occurence and similarity to Hashimoto's struma
Endocrinology, 1968, 83, 501-8.

15 - BENDIXEN G.
Specific inhibition of the in vitro migration of leucocytes in ulcerative colitis and Crhon's disease.
Scand. J. Gastroent., 1967, 2, 214.

16 - BENDIXEN G.
Organ specific inhibition of the in vitro migration of leucocytes in human glomerulo nephritis.
Acta Med. Scand., 1968, 184, 99.

17 - BENDIXEN G.
Cellular hypersensitivity to components of intestinal mucose in ulcerative colitis and Crohn's disease.
Gut., 1969, 10, 631-36.

18 - BENDIXEN G., SØBORG M.
A leucocyte migration technique for in vitro detection of cellular (delayed type) hypersensitivity in man
Dan. Med. Bull., 1969, 16, 1-5.

19 - BENDIXEN G., SØBORG M.
Comments on the leucocyte migration technique as an in vitro method for demonstrating cellular hypersensitivity in man.
J. of Immunol., 1970, 104, 1551-2.

20 - BENNET W.E., COHN Z.A.
The isolation and selected properties of blood monocytes
J. Exp. Med., 1966, 123, 145.

21 - BISHOP D.C., PISCIOTTA A.V., ABRAMOFF P.
Synthesis of normal and immunogenic RNA in peritoneal macrophage cells.
J. Immunol., 1967, 99, 751.

22 - BLIZZARD R.M., CHEE D., DAVIS W.
The incidence of parathyroïd and other antibodies in the sera of patients with idiopathic hypoparathyroïdism.
Clin. Exp. Immunol., 1966, 1, 119.

23 - BLIZZARD R.M.
Idiopathic hypoparathyroïdism : a probable auto-immune disease in "text book of immunopathology".
Miescher P.A., MULLER-EBERHARDT H.J. Ed. Grune & Stratton- NY. Lond., 1969, vol. 2, 547.

24 - BLOCH-SHTACHER N., HIRSCHHORN K., UHR J.W.
The response of lymphocytes from non immunized humans to antigen antibody complexes.
Clin. Exp. Immunol., 1968, 3, 889.

25- BLOOM B.R., BENNETT B.
Mechanism of a reaction in vitro associated with delayed-type hypersensitivity.
Science, 1966, 153, 80-2.

26- BLOOM B.R., BENNETT B.
Migration inhibitory factor associated with delayed type hypersensitivity.
Fed. Proc., 1968, 27, 1, 13-15.

27- BONNYNS M., BASTENIE P.A.
Serum thyrogrophin asymptomatic atrophic thyroïditis.
J. Clin. Endocr. Metab., 1967, 27, 849-54.

28- BONNYNS M., VAN HAELST L., BASTENIE P.A.
Conceptions actuelles concernant la pathogénie de l'hyperthyroïdie.
Acta Clin. Belg., 1969, 24, 17-31.

29- BROCKMAN J.A., STIFFY A.V., TESAR W.C.
An in vitro assay for encephalitogenic components of central nervous tissues.
J. of Immunol., 1968, 100, 1230-6.

30- BRIBET-FORETTE F.
Le test de transformation lymphoblastique en présence d'ADN.
Thèse Paris, 1969.

31- BROSTOFF I., ROITT I.M., DONIACH D.
Leucocyte migration inhibition in auto immune diseases.
Lancet, 1969, 1, 1212-3.

32- BROSTOFF J., ROITT I.M.
Cell mediated (delayed) hypersensitivity in patients with summer hay fever.
Lancet, 1969, 2, 1269-72.

33- BROSTOFF J., ROITT I.M.
Delayed hypersensitivity in hay fever
Lancet, 1970, 1, 238-9.

34- BROWN P.C., GLYNN L.E., HOLBOROW E.J.
The dual necessity for delayed hypersensitivity and circulating antibody in the pathogenesis of experimental allergic orchitis in guinea pig.
Immunology, 1967, 13, 307-14.

35- BUCHANAN W.W., ANDERSON J.R. GOUDIE R.B.
A skin test in thyroïd disease
Lancet, 1958, 2, 928-31.

36- CAMUS M., ERMANS A.M., BASTENIE P.A.
Alterations of iodine metabolism in asymptomatic thyroïditis
Metabolism, 1968, 17, 1064-72.

37- CARPENTER R.R.
In vitro study of delayed hypersensitivity.
I-Specific inhibition of migation of cells from adjuvant immunized animals by purified protein derivative and other protein antigens.
J. Immun., 1963, 91, 803-18.

38- CARPENTER R.R., BANDRISS M.W.
In vitro studies of delayed hypersensitivity
II- Relatioship of delayed hypersensitivity and inhibition of cell migration by picrylated proteins.
J. Exp. Med., 1964, 120, 1231-43.

39- CLINE M.J., SWERT V.C.
The interaction of human monocytes and lymphocytes
J. Exp. Med., 1968, 128, 1309-26.

40- CHANDLER R.W., KYLE M.A., HUNG W., BLIZZARD R.M.
Experimentally induced auto immunization disease : failure of transplacental transfer of anti thyroïd antibodies to produce cretinism
Pediatrics, 1962, 29, 961-7.

41 - CHANDLER R.W., BLIZZARD R.M., HUNG W., KYLE M.
Indidence of thyrocytotoxic factor and other anti thyroïd antibodies in the mothers of cretins.
New England J. Med., 1962, 267, 376-80.

42- CLAUSEN J.E., SØBORG M.
In vitro detection of tuberculin hypersensitivity in man.
Acta Med. Scand., 1969, 186, 227-230.

43- CLAUSEN J.E.
Polymorphonuclear leucocytes in the specific antigen-induced inhibition of the in vitro migration of human peripheral leucocytes
Acta Med. Scand., 1970, 188, 59-64.

55- DE GROOT L.J., JAKSINA S.
Observation on the role of circulatind lymphocytes in thyroïd auto-immunity
J. Clin. Endocr. Met., 1969, 29, 207-12.

56- DE SOUSA M.A.B., PARROTT D.M.V., PANTELOURIS E.M.
The lymphoïd tissues in mice with congenital aplasia of the thymus
Clin. Exp. Immunol., 1969, 4, 637-45.

57- DUMONDE D.C., HOWSON W.T. WOLSTENCROFT R.A.
The role of macrophages and lymphocytes in reactions of delayed hyper-sensitivity
in MIESCHER and GRABAR Vth int. Symp. Immunopath. (Grune & Stratton N.Y., 1968.

58- DUMONDE D.C., WOLSTENCROFT R.A., PANAYI G.S.
Lymphokines : non antibody mediators of cellular immunity generated by lymphocyte activation.
Nature (London), 1969, 224, 38-42.

59- DUPUY J.M., GOOD R?A.
Role of lymphoïd cells in passive transfer with plasma of delayed hyper-sensitivity in guinea pigs.
J. Immunol., 1970, 105, 111-5.

60- DWYER J.M., Mc KAY I.M.
Antigen binding lymphocytes in human blood.
Lancet , 1970, 1, 7639, 1647.

61- EDDLESTON A., WILLIAMS R., CALNE R.
Cellular immune response during rejection of a liver transplant in man.
Nature, 1969, 222, 5194-5.

62- EDMONDS M.W., ROW V.V., VOLPE R.
Action of globulin and lymphocytes from peripheral blood of patients with Grave's disease on isolated bovine thyroïd cells.
J. Clin. Endocr. Met., 1970, 31, 480.

63- EGLOFF B., FISCHBACHER W., VON GOUMOENS W.
Lymphomatose hypophysitis mit hypophysen insuffisienz
Schweiz. Med. Wschr., 1969, 42, 1499-1502.

64- ~~[illegible]~~
ENGELBERTH O., JEZKOVA Z.
Auto antibodies in Sheehan's syndrome
Lancet, 1965, 1, 1075.

65- FALK R.E., COLLSTE L., MOLLER G.
Release of migration inhibitory factors from immune rats lymphocytes confron ted with histocompatibility antigens.
Nature, 1969, 224, 1206-7.

66- FALK R.E., THORSBY E., MOLLER E., MOLLER G.
In vitro assay of cell mediated immunity: the inhibition of migration of sensitized human lymphocytes by HLA antigens.
Clin. exp.,Immunol., 1970, 6, 445-55.

67- FARHANGI M.B., KRONMAN B.S., OSSERMAN E.F.
In vitro migration of human monocytic and rat mononuclear (monocytic leukemia).
Fed. Prod., 1970, 29, 621 Abs

68- FEINSTONE S.M., BEACHEY E.H., RYTEL M.W.
Induction of delayd hypersensitivity to influenza and mumps virus in mice.
J. Immunol., 1969, 103, 844-9.

69- FELIX-DAVIES D., WAKSMAN B.H.
Passive transfer of esperimental immune thyroïditis in the guinea pig
Arthritis Rheumatol., 1961, 4, 416-7.

70- FERRARESI R.W., DEDRICK C.T., RAFFEL S., GOIHMAN-YAHR M.
Studies on the macrophage inhibition test.
I- Comparison of the skin and cell migration relation during the course of development of delayed hypersensitivity
J. Immun., 1969, 102, 852-8.

71- FIELD E.J., CASPARY E.A., HALL R., CLARK F.
Circulating sensitised lymphocytes in Grave's disease. Observation on it's pathogenesis.
Lancet, 1970, 1, 1144-7.

72- FIELD E.J., CASPARY E.A.
Lymphocyte sensitization : an in vitro test for cancer.
Lancet, 1970, 2, 1337-41.

73- FIXA B., THIELE F.B.
Cyanocobalamin intrinsie factor. In vitro influence on "leukocyte" lymphocyte transformation and capillary migration inhibition control.
Med. Exp., 1970, 19, 231-9.

74- FLAD H.D., HOCH APFEL G., FEDERLIN K.
Verzogerte allergic in vitro : Moglichkeiten zur Anwendungdes systems bei Meuschen.
Verhaud. Deutsch. Ges. fur Imm. Med., 1969, 75, 711-14.

75- FLAD H.D., HOCHAPFEL G.
Migration inhibitory factor and mitogenic factor produced by antigen stimulated human lymphocytes.
Symposium on "the role of lymphocytes and macrophages in the immunological response.
XIII International congress Haematology, Munchen, Augsut 2-8-1970
To be published by Springer-Verlag
D.C. Dumonde, Editor.

76- FRIEDMAN H., SANZ M., COMBE C., MILLS L., LEE Y.
Migration of mouse lymphocytes in vitro from capillary tube cultures.
Proc. Soc. Exp. Biol. Med., 1969, 849-54.

77- GELL P.G.H., BENACERRAF B.
Studies on hypersensitivity
IV-The rélatioship between contact and delayed hypersensitivity : a study on the specificity of cellular immune response.
J. Exp. Med., 1961, 113, 571-86.

78- GEORGE M., VAUGHAN J.
In vitro cell migration as a model for delayed hypersensitivity.
Proc. Soc. Exp. Biol. Med., 1962, 3,2.

79- GILLES R.F.
Experimental auto immune thyroïditis in transplanted isologous tissue and attemps to produce parathyroïd lesions.
Clin. Exp. Immunol., 1966, 1, 297.

80- GIRARD J.P.
Valeur du test d'inhibition de la migration des cellules lymphoïdes in vitro appliqué au diagnostic des allergies médicamenteuses.
Schweiz Med. Wschr, 1968, 98, 1655-6.

81- GIRARD J.P.
Application de techniques nouvelles au diagnostic immunologiqué des allergies médicamenteuses.
Ther. Omschan, 1969, 26, 714-8.

82- GODAL T., KARESEN R.
Induction of thyroïditis in guinea pigs by serum from rabbits immunized with thyroglobulin
Acta path. microbiol. scand., 1967, 69, 332.

83- GODAL T.? KARESEN R.
Induction of thyroïditis in guinea pigs by serum from rabbits immunized with guineapig thyroglobulin.
Acta path. microbiol. scand., 1967, 69, 343.

84- GOLDBERG L.S., FUDENBERG H.H.
The auto immune aspects of pernicious anemie
Ann. J. Med., 1969, 46, 489-94.

85- GOLDBERG L.S., BLUESTONE R., BARNETT E.V., LANDAU W.J.
Studies on lymphocyte and monocyte function in chronic muco cutaneous candidiasis.
Clin. Exp. Immunol., 1971, 8, 37-43.

86- GORDON J., MAC LEAN L.D.
A lymphocyte stimulating factor produced in vitro.
Nature, 1965, 208, 795-6.

87- GORSKI A., SANKOWSKI A., OSTROWSKI K.
Study of lymphocyte reactivity as measured by migration inhibition test.
Ann. Immunol., 1969, 5, 3-4, 21-5.

88- GOTOFF S.P.
Macrophage aggregation : an in vitro correlate of delayed hypersensitivity.
Fed. Proc., 1970, 29, 306 Abs.

89- GOUDIE R.B.
Anterior hypophysitis associated with auto immune disease.
Proc. Roy. Soc. Med., 1968, 61, 275.

90- GRANGER G.A., MOORE G.E., WHITE J.G., MATZINGER P., SUNDSMO J.S., SHUPE S., KOLB W.P., KRAMER J., GLADE P.R.
Production of lymphotoxin and migration inhibitory factor by established human lymphocytes cell lines.
J. of Immunol., 1970, 104, 1476-85.

91- GREAVES M.F.
Biological effects of anti immunolghobulin receptors ou T and B lymphocytes.
Transplant. Rev., 1970, 5, 45-75.

92- GREEN J.A., COOPERBAND J.R., RUTSTEIN J.A., KIBRICK K.
A lymphocyte produced factor which inhibits proliferation of other cells.
Fed. Proc., 1970, 29, 306 Abs.

93- HALPERN B., STORB U., FRAY A.
Delayed hypersensitivity in vitro.
Nature, 1967, 215, 400.

94- HARDT F., NERUP J., BENDIXEN F.
Anti hepatic cellular hypersensitivity in hepatic cirrhosis.
Lancet, 1969, 1, 730.

95- HARPEY J.P., CAILLE B., MOULIAS R., GOUST J.M.
Lupus like syndrome induced by D-penicillamine in Wilson's disease.
Lancet, 1971, 1, 272.

96- HARPEY J., MOULIAS R., GOUST J.M., BERTHAUX P.
Syndrome lupique induit par le D-Pénicillamine au cours d'une maladie de Wilson. Etude immunologique par le TML.
Ann. Med. Int., 1971. A paraître.

97- HEISE E.R., HANS S., WEISER R.S.
In vitro studies on the mechanism of macrophage migration inhibition in tuberculin sensitivity.
J. Immunol., 1968, 101, 1004-15.

98- HELLSTROM I.E., HELLSTROM K.E., PIERCE G.E., BILL A.H.
Demonstratio, of cell bound and humoral immunity against neuroblastoma.
Proc. Nat. Acad. Sci. (Wash), 1968, 60, 1231.

99- HOENIG E.M., HIRANO A., LEVINE S., GHATAK N.R.
The early development and fine structure of allergic adrenalitis.
Lab. Invest, 1970, 22, 3, 198-205.

100- HUBER H., FUDENBERG H.H.
Receptor sites of human monocytes for IgG.
Int. Arch. Allergy, 1968, 34, 18-31.

101- HUBER H., DOUGLAS S.D., NUSBACHER J., KOCHWA S., ROSENFIELD R.E.
IgG subclass specificity of human monocytes receptor sites.
Nature, 1971, 229, 419-20.

102- HUGHES D., NEWMAN S.E.
Lymphocyte sensitivity to encephalitogenic factor in guinea pigs with experimental allergic encephalomyelitis as shown by in vitro inhibition of macrophage migration.
Int. Arch. Allergy, 1968, 34, 237-56.

103- HUGHES D., CASPARY E.A., FIELD E.J.
Delayed hypersensitivity studies in experimental allergic encephalomyelitis a comparison of macrophage migration inhibition test and electrophoretic mobility
Z. Immun. Forsch., 1970, 141, 14-19.

104- HUME R., ROBERTS G.H.
Hypophysitis and hypopituitarism : report of a case.
Brit. Med. J., 1967, 1, 548-50.

105- IANCOVIC B., ISVANESKI M. LJILJANA POPESCOVIC, KOSANA MITROVIC
Experimental allergic thyroïditis (and parathyroïditis) in neonatally thymec tomized and bursectomized chickens.
Int. Arch. Allergy, 1965, 26, 18.

106- IRONO T.
Induction of adrenal insuffisicency in the rat by sensitization with homologous tissue.
Metablism (aug.68), 17, 127, 717-24.

107- IRVINE W.J., CHAN M.W., SCARTH L.
The further characterization of auto antibodies reactive with exhadrenal steroïd producing cells in patients with adrenal disorders.
Clin. Exp. Immunol., 1969, 4, 489-503.

108- IRVINE W.J., SCARTH L.
Antibody to the oxyphil cells of the human parathyroïd in idiopathic hypo-parathyroïdism.
Clin. Exp. Immun., 1969, 4, 505-10.

109- JACOB E., GLASS G.B.
The participation of complement in the parietal cell antigen antibody reaction in pernicious anaemia and atrophic gastritis.
Clin. Exp. Immunol., 1969, 141-53.

110- JANKOVIC B.D., MITROVIC K., POPESKOVIC L., MILOSEVIC D.
Passive transfert of experimental allergic thyroïditis, delayed hypersensitivity to thyroglobulin and anti thyroglobulin antibody formation. in inbred Lewis rats
Clin. Exp. Immunol., 1969, 5, 29-41?

111- JONES M., DERBES V., GUM O., AZOURY F.
Intradermal tests with nuclear factors in S.L.E.
Ach. Int. Med., 1967, 95, 559-62.

112- JUREZIZ R.E., THOR D.E., DRAY S.
Transfer with RNA extracts of the cell migration inhibition. Correlate of delayed hypersensitivity in the guinea pig.
J. Immunol., 1968, 101, 823-9.

113- JEREZIZ R.E., THOR D.E., DRAY S.
Transfer of the delayed hypersensitivity skin reaction in the guinea pig using R.N.A. treated lymphoïd cells.
J. of immunol., 1970, 105, 1313-22.

114- KALDEN J., JAMES K., WILLIAMSON W.G., IRVINE W.J.
The effect of antilymphocyte IgG on established auto allergic thyroïditis in rats.
Clin. exp. Immunol., 1969, 5, 597-606.

115- KALDEN J.R., EVANS E.M., IRVINE W.J.
The effect of hypophysectomy on the immune response.
Immunology; 1970, 671-80.

116- KALDEN J.R., JAMES K.
The effect of anti lymphocyte antibody on the development of experimental thyroïditis in rats induced by the intra lymph node injection of rat thyroglobulin in Freund's complete adjuvant.
Immunology, 1971, 20, 269-76.

117- KALTREIDER H.B., SOGHOR D., TAYLOR J.B., DECKER J.L.
Capillary tube migration for detection of human delaued hypersensitivity; Difficulties encountered with Buffy coat cells and tuberculin antigens.
J. Immunol., 1969, 103, 179-84.

118- KARESEN R., GODAL T.
Induction of thyroïditis in guinea pigs by intravenous injection of rabbit antiguinea pig thyroglobulin serum.
II-Studied with fluorescent antibody technique.
Immunology, 1969, 17, 861.

119- KARESEN R.
Thyroïd eosimophilia ans cutaneous Arthus reaction simultaneous by induced in the guinea pig by anti serum to thyroglobulin.
Acta Pat. Microbiol. Scand., (section b), 1970, 78, 435-43.

120- KASAKURA S., LOWENSTEIN L.
A factor stimulating DNA synthesis derived from the medium of leucocytes cultures.
Nature, 1965, 208, 794-5.

121- KASAKURA S.
Heterogeneity of blastogenic factor, produced in vitro by antigenically stimulated and unstimulated leukocytes.
J. Immunol., 1970, 105, 1162-7.

122- KELLY R.A., WOLSTENCROFT R.A., DUMONDE D.C.
Changes in cellular and humoral constituents of afferent lymph during a primary immune response.
(to be published).

123- KITE J.H.
Discussion of "Target cell destruction".
Fed. Proc., 1968, 27, 42-4.

124- KITE J.H., FLANAGAN T.D., SUNDICK R.S., WITEBSKY E.
Factors associated with the development of spontaneous thyroïditis in chickens.
Fed. Proc., 1969, 28, 361.

125- KIRKPATRICK C.H., RICH R.R., GRAW R.G., ROGENTINE G.N.
Treatment of chronic moniliasis with lymphocyte transfusion.
Lancet, 1970, 2, 569.

126- KITE J.E., WICK G., TWAROG B., WITEBSKY E.
Spontaneous thyroïditis in an obese strain of chickens.
II-Investigations on the development of the disease.
J. Immunol., 1969, 103, 1331-41.

127- KOFFLER D., PARONETTO F.
Transfer of experimental auto immune thyroïditis in Hartley guinea pigs.
Fed. Proc., 1965, 24, 370.

128- KRECJI J., PEKAREK J., JOHANOVSKY J., SVESCAR J.
Demontration of the inflammatory activity of the supernatant lymph node cells incubated with a high dose of antigen.
Immunology, 1969, 16, 677-84.

129- LAMELIN J.P., VASSALLI P.
Inhibition of macrophage migration by a soluble factor from lymphocytes stimulated with PHA and ALS
Nature, 1971, 229, 427-8.

130- LERVER E.M., Mc MASTER P.R.B., EXUM E.D.
The course of experimental auto allergic thyroïditis in inbred guinea pigs.
J. Exp. Med., 1964, 119, 327-42.

131- LEVINE S., WENK E.J.
The production and passive transfer of allergic adrenalitis.
Amer. J. Path., 1968, 52, 41.

132- LEVINE S., SOWINSKI R.
Allergic adrenalitis and encephalomyelitis produced by injection into lymph nodes.
Clin. exp. Immunol., 1969, 4, 177-8.

133- LEVINE S., SOWINSKI R.
Allergic adrenalitis in adrenal isografts
Transplantation, 1970, 10, 1, 92-9.

134- LAWRENCE H.S.
In vitro correlates of delayed hypersensitivity
Fed. Proc., 1968, 27, 1, 3-5.

135- LEBOWITZ A., LAWRENCE H.S.
Target cell destruction by antigen stimulated lymphocytes
Fed. Proc., 1969, 28, 630.

136- LING N.R., ACTON A.B., ROITT I.M., DONIACH D.
Interaction of lymphocytes from immunized hosts with thyroïd and other cells in culture.
Brit.JExp. Path., 1965, XLVI, 3, 348.

137- LIPSMEYER E., KANTOR F.
Delayed hypersensitivity
III-Effect of the preexposure to antigen upon macrophage migration
J. of immunol., 1969, 102, 1074-8.

138- LO BUGLIO A.F., COTRAN R.S., JANDL H.H.
Red cells coated with immunoglobulin G : binding and sphering by mononuclear cells in man.
Science, 1967, 158, 1582-1585.

139- LOCKSHIN M.D.
Delayed hypersensitivity in Hay-fever.
Lancet, 1970, 1, 238.

140- LOCKSHIN M.D.
In vitro delayed hypersensitivity in anergic and non anergic patients.
Fed. Proc., 1970, 29, 306.

141- LOCKSHIN M.D.
Macrophage migration inhibition test.
New England J. Med., 1970, 283, 493.

142- LOLEKHA S., DRAY S., GOTOFF S.P.
Macrophage aggregation in vitro : a correlate of delayed hypersensitivity
J. of immunol., 1970, 104, 296-304.

143- LUPULESCU A., POP A., MERCULIEV E., NEASCU C., HEITMANEK C.
Experimental iso immune hypoparathyroïdism.
Nature (Lond.), 1965, 206, 415-16.

144- LUPULESCU A., POTORAC E., POP A., HEITMANEK C., MERCULIEV E., CHISIU N.
OPRISAN R., NEASCU C.
Experimental investigations on immunology of the parathyroïd gland.
Immunology, 1968, 14, 475-82.

145- Mc GUIGAN J.
In vitro behavior of lymphocytes from patients with pernicious anémia.
J. Clin. Invest., 1967, 46, 1094.

146- Mc IVOR K.L., WEISER S.
Mechanism of target cell destruction by allo immune peritoneal macrophage
I - The effect of treatment with sodium fluoride.
Immunology, 1971, 20, 307-13.

147- Mc IVOR K.L., WEISER R.S.
Machanism of target cell destruction by allo immune peritoneal macrophages
II- Release of a specific cytotoxin from interacting cells.
Immunology, 1971, 20, 315-22.

148- Mc MASTER P.R.B., LERNER E.M., EXUM E.D.
Relationship of delayed hypersensitivity and circulating antibody to
experimental thyroïditis in inbred guinea pig.
J. Exp., Med., 1961, 113, 611.

149- Mc MASTER P.R.B., LERNER E.M., MUELLER P.S.
Genetic influence on experimental allergie thyroïditis in guinea pigs.
Science, 1965, 147, 3654.

150- Mc MASTER P.R.B., LERNER E.M.
The transfer of allergic thyroïditis in histocompatible guinea pigs
by lymph node cells.
J. immunol., 1967, 99, 208.

151- Mc MASTER P., LERNER E.
The transfer of allergic thyroïditis in histocompatible guinea pig by
lymph node cells.
J. of Immunol., 1968, 99, 208.

152- MACKENZIE I.L., DONALDSON R.M., KOPP W.L., TRIER J.S.
Antibodies to intestinal microvillous membranes.
II- Inhibition of intrinsic factor mediated attachement of vitamin $B_{12}$
to Hamster Brush borders.
J. Exp. Med., 1968, 128, 375-86.

153- Mc MASTER P.R.B., KYRIAKOS M.
The prevention of auto immunity to the thyroïd and allergic thyroïditis by antigenic competition.

154- Mc SWEENN R.N.M., ONO K., BELL P.R.F., THOMASON C.M., STARZL T.E.
Experimental allergie thyroïditis in rats : suppresssion by heterologous (rabbit) anti lymphocyte sera to lymph node, thymic and splènic lymphocytes
Clin. Exp. Immunol., 1970, 6, 273-79.

155- MAINI R.N., BRYCESON A.D.M., WOLSTENCROFT R.A., DUMONDE D.C.
Lymphocyte mitogenic factor in man.
Nature, 1969, 224, 43-4.

156- MALUGREN R., HOLMES R., MORTON D., YEE C., MARRONE J., MYERS K.
In vitro detection of guinea pig allo antigens by the macrophage inhibition technique.
Transplant., 1969, 8, 4, 485-9.

157- MARCUS Z.A.
Macrophage inhibition at the onset of tuberculin sensitivity
Fed. Proc., 1970, 29, 305 Abs.

158- METZGAR R.S., BUCKLEY R.H.
The development of homologous skin sensitizing antibodies in ecperimental thyroïditis.
Int . Arch. Allergy, 1967, 31, 174-83.

159- MILLER J.F.A.P., OSOBA D.
Current concepts of the immunological functions of the thymus.
Physiol. Rev., 1967, 47, 437-520.

160- MILLER J.F.A.P.
Interaction entre les ℓ de lignée thymique et médullaire dans la réponse immunitaire.
RFECB, 1969, XIV, 614-21.

161- MOOKERJEE B., ACKMAN C.F.D., DOSSETOR J.B.
Delayed hypersensitivity in vitro using human peripheral lymphocytes.
Transplantation, 1969, 8, 745-748.

162- MOONEY J.J., WAKSMAN B.H.
Activation of rabbit macrophage monolayers by supernatants of antigen stimulated lymphocytes
Fed. Proc., 1970, 29, 359 Abs.

163- MOULIAS R., GOUST J.M., DEVŒLLECHABROLLE A., BUFFET C., MULLER BERAT C.N.
Le test de migration des leucocytes du sang périphérique (T.M.L.). Un nouveau test d'hypersensibilité retardée in vitro chez l'homme.
Presse Méd., 1970, 78, 2315-8.

164- MOULIAS R., MULLER BERAT C.N., GOUST J.M., DEVILLECHABROLLE A.
Human blood leucocytes migration test, an in vitro correlate of delayed hypersensitivity (à paraître).
Advances in Experim. Med. and Biology, 1971

165- MULLER BERAT C.N., MOULIAS R.
Le test de migration des leucocytes du sang périphérique (T.M.L.). Un nouveau test d'hypersensibilité retardée in vitro chez l'homme.
I-Méthodes et exemples d'applications pratiques.
Presse Médicale, 1970, 78, 77-9.

166- MULLER-BERAT C.N., MOULIAS R., DEVILLECHABROLLE A., SELLIER P., GOUST J.M., BUFFET C., BERTHAUX P.
Aperçus préliminaires sur le test de migration des leucocytes du sang périphérique, nouveau test d'hypersensibilité retardée applicableà l"homme.
Ann. Med. Int., 1970, 121, 2, 249-252.

167- MULLER-BERAT C.N., EYQUEM A., MOULIAS R.
Assay of the anti lymphocyte globulin by means of the leucocyte migration test in capillary tubes.
Sympaosium sur la standadisation du serum anti lymphocyte , Versailles, 1970.

168- NAKAMURA R.M., WEIGLE W.O.
Experimental thyroïditis in complement intact and deficient mice following injection of heterologous thyroglobulin without adjuvant.
Proc. Soc. Exper. Med., 1968, 129, 412-6.

169- NAKAMURA R.M., WEIGLE W.O.
Transfer of auto immune thyroïditis by serum from thyroïdectomized donors.
J. Exp. Med., 1969, 130, 263-83.
Voir WEIGLE JEM, 1969.

170- NAKAMURA R.M., WEIGLE W.O.
Suppression of thyroïd lesions in rabbits by treatment with cyclophophamide after the induction of thyroïditis.
Clin. Exp. Immunol., 1970, 7, 541-50.

171- NERUP J., ANDERSEN V., BENDIXEN G.
Anti adreanl cellular hypersensitivity in Addison's disease.
Clin. Exp. Immunol., 1969, 4, 355-63.

172- NERUP J., BENDIXEN G.
Anti adrenal cellular hypersensitivity in Addison's disease
II-Correlation with clinical and serological findings
Clin. Exp. Immunol., 1969, 5, 341-53.

173- NERUP J., BENDIXEN G.
Antiadrenal cellular hypersensitivity in Addison's disease.
III-Species specificity and sub-cellular localization of the antigen.
Clin. Exp., Immunol., 1969, 5, 355-64.

174- NERUP J., ANDERSEN G., BENDIXEN G.
Anti adrenal cellular hypersensitivity in Addison's disease.
IV- In vivo and in vitro investigations on the mitochondrial fraction.
Clin. Exp. Immunol., 1970, 6, 733-9.

175- PABST H., DUPUY J.M.
Transfer allergic encephalomyelitis with plasma factor.
Fed. Proc., 1970, 29, 622 Abs.

176- PANTELOURIS E.M.
Absence of thymus in a mouse mutant.
Nature, 1968, 217, 370-1.

177- PAQUE R.E., DRAY S.
Interspecies transfer of delayed hypersensitivity in vitro with RNA extracts.
J. of Immunol., 1970, 105, 1334-9.

178- PATRUCCO A., ROTHFIELD N., HISRSCHKORN K.
The response of cultured lymphocytes from patients with systemic lupus erythematosus.
Arthr. Rhum., 1968, 10, 32-6.

179- PEILLON F., DELZANT G., FANDRE M., COUCHOT S., GILBERT DREYFUS ,SIMON F.
Triple syndrome infantile : inusffisance surrénale, hypoparathyroïdie et moniliase.
Ann. Med. Int., 1970, 121, 231-6.

180- PICK E., KREJCI J., CECH K. TURK J.L.
Interaction between "sensitised lymphocytes" and antigen in vitro
I-The release of a skin reactive factor
Immunology, 1969, 17, 741-67.

181- POLLOCK E., PEGRAM C., VASQUEZ J.
Comparison of migration rates between alveolar and peritoneal macrophages.
Fed. Proc., 1970, 29, 305 Abs.

182- POUSSET G., MONIER J.C., THIVOLET J.
Anticorps anti surrénaliens et maladie d'Addison. Application de la technique d'immunofluorescence dans 100 cas de maladie d'Addison.
Ann. Endocr., Paris, 1970, 5, 995-1003.

183- QUASTEL M.R.
Inhibition by ouabaïn of human lymphocyte transformation induced by PHA in vitro.
Nature, Jul. 1968, 219, 198-200.

184- RAFF M.C., WORTIS H.H.
Thymus dependance of bearing cells in the peripheral lymphoïd tissues of mice.
Immunology, 1970, 18, 931-42.

185- RAFF M.C.
Two distinct populations of peripheral lymphocytes in mice distinguishable by immunofluorescence.
Immunology, 1970, 19, 637-50.

186- RASAPAKSE D.A., GLYNN L.E.
Macrophage migration inhibition test using guinea pig macrophages and human lymphocytes.
Nature, 1970, 226, 857-8.

187- RAUCHA.C., FERRARESI R.W., RAFFEL S., EINSTEIN E.R.
Inhibition of in vitro cell migration in experimental allergic encephalomyelitis.
J. Immunol., 1969, 102, 6, 1431-6.

188- REINERT Ph., DEVILLECHABROLLE A., BRIBET [redacted] F., CHIGOT D., MOULIAS R.
Le test de transformation lymphoblastique des lymphocytes (T.T.L.) appliqué au diagnostic des affections auto immunes.
Presse Méd., 1971, à paraître.

189- REMOLD H.G., HABER E., DAVID J.R.
Cellular hypersensitivity : recovery of migration inhibitoring factor (M.I.F.) following purfication on acrylamide gel dise electrophoresis.
Fed. Proc., 1969, 28, 359.

190- REMOLD H.G., DAVID J.R.
Cellular hypersensitivity : characterization of migration inhibitory factor (M.I.F.) by enzymatic treatment.
Fed. Proc., 1970, 29, 305 Abs.

191- REUBER M.D., GLOVER E.L.
Thyroïditis in Buffalo strain rats ingesting 7-12 diméthylbenzoanthracene
Experientia, 1969, 25, 753.

192- REUBER M.D.
Effect of age and sex on chronic thyroïditis in Buffalo strain rats ingestin 3-méthylcholanthrène.
Endocrinology, 1969, 85, 443-6.

193- RICCI M., ROMAGNANI S., PASSALEVA A., BILLIOTTI G.
Lymphocyte transformation and macrophage migration in guinea pigs immunized with Freund's complete adjuvant.
Clin. Exp. Immunol., 1969, 5, 659-68.

194- ROCKLIN R.E., MEYERS O.L., DAVID J.R.
An in vitro assay for cellular hypersensitivity in man.
J. Immun., 1970, 104, 95-102.

195- ROCKLIN R.E., ROSEN F.S., DAVID J.R.
In vitro lymphocyte response of patients with immunologic deficiency diseases. Correlation of production of macrophage inhibitory factor with delayed hypersensitivity.
New England Med., 1970, 282, 1338-43.

196- ROCKLIN R.E., ROSEN F.S., DAVID J.R.
Letter to the Editor.
New England J. Med., 1970, 283, 493-4.

197- ROITT I.M., DONIACH D.
Delayed hypersensitivity in auto immune disease.
Brit. Med. Bull., 1967, 23, 66.

198- ROMAGNANI S., RICCI M., PASSALEVA A., BILLIOTTI G.
Cell mediated immune responses to heterologous and homologous thyroglobulin in guinea pigs immunized with heterologous thyroïd extracts
Immunology, 1970, 19, 599-612.

199- ROSENBERG S.A., DAVID J.R.
Inhibition of leucocyte migration : an evaluation of this in vitro assay of delayed hypersensitivity in man to a soluble antigen.
J. Immunol., 1970, 105, 1447-53.

200- SALVIN S.B., NISHIO J.
"In vitro" cell interactions in delayed hypersensitivity
J. Immunol., 1969, 103, 1, 138-41.

201- SALVIN S.B., SELL S., NISHIO J.
Behavior of lymphocytes and macrophages in delayed hypersensitivity
Fed. Proc., 1970, 29, 305 Abs.

202- SCHLESINGER M., YRON I.
Serologie demonstration of a thymus-dependent population of lymph node cells.
J. Immunol., 1970, 104, 798-804.

203- SCHULLENBERG C.C., SINKOVICS J.G.
Lymphocytic cytotoxins in wasting syndroms
New England J. Med., 1970, 283, 1347-8.

204- SCHWARTZ H.J., PELLEY R.P., LEON M.A.
Release of migration inhibitory factor from non-immune lymphocytes by concanalin A.
Fed. Proc., 1970, 29, 360 Abs.

205- SEVERSON C.D., FRANK D.H., STOKES G., SEEPESARD M.F., THOMPSON J.J.
Rapid collection of human leucocytes or lymphocytes from peripheral blood
Transplantation, 1969, 8, 535-8.

206- SHISHIBA Y.
Cytophilic antithyroglobulin antibody in human and rabbit sera.
J. Clin. Endocr. Metab., 1968, 28.

207- SMITH M.G.M., EDDLESTON A., DOMINGUEZ J., EVANS D., BEWICK M., WILLIAMS K.
Changes in leucocyte migration after renal transplantation.
Brit. Med. J., 1969, 4, 275-8.

208- SØBORG M., BENDIXEN G.
Human lymphocyte migration as a parameter of hypersensitivity
Acta Med. Scand., 1967, 181, 247-56.

209- SØBORG M.
In vitro detection of cellular hypersensitivity in man. Specific migration inhibition of white blood cells from brucella positive persons.
Acta Med. Scand., 1967, 182, 167-74.

210- SOBORG M., HALBERG P.
Cellular hypersensitivity in Hashimoto's thyroïditis
Acta Med. Scand., 1968, 183, 101-5.

211- SØBORG M.
In vitro migration of peripheral human leucocytes in cellular hypersensitivity
Acta Med. Scadd., 1968, 184, 135-9.

212- SØBORG M., BERTRAM V.
Cellular hypersensitivity in Sjögren's syndrome.
Acta Med. Qcand., 1968, 184, 319-22.

213- SØBORG M.
Interaction of human peripheral lymphocytes and granulocytes in the migration inhibition reaction.
Acta Med. Scand., 1969, 185, 221-6.

214- SPINNER M.N., BLIZZARD R.M.,GIBBS J., ABBEY H., CHILDS B.
Familial distribution of organ specific antibodies in the blood of patients with Addison's disease and hypoparathyroïdism and their relatives
Clin. Exp. Immunol., 1969, 5, 461-68.

215- SPITZLER H., HUBER H., FUDENBERG H.H.
Inhibition of capillary migration by antigen antibody complexes.
J. of Immunol., 1969, 102, 404-11.

216- SPITZLER L.E., FUDENBERG H.H.
Serum-transfer of a cellular immune response.
Fed. Proc., 1970, 29, 305 Abs

217- SPITZLER L.E., FUDENBERG H.H.
Products of interaction of antigen sensitized leucocytes and antigen further characterization of the mitogenic factor.
J. Immun., 1970, 104, 544-8.

218- STRICKLAND R.G., BAUR S., ASHWORTH L.A.E., TAYLOR K.B.
A correlative study of immunological phenomena in pernicious anaemia.
Clin. Exp. Immunol., 1971, 8, 25-31.

219- SVESCAR J.
Studies on production of biologically active substances which inhibit c migration in supernatants and extracts of hypersensitive lymphoïd c incubated with specific ag in vitro.
Immunology, Jul. 1968, 15, 1-11.

220- SVESCAR J.
Tissue culture studies on the mechanism of delayed type hypersensitivity. 13 Passive transfer of the cell migration inhibition capacity by means of a factor released folowing interaction of lymph node cells from sensitized rabbits with specific antigen.
Z. Immunitactforsch, 1969, 138, 342-54.

221- SVESCAR J., PEKAREK J., JOHANOVSKY J.
Studies on the mechanism of delayed type hypersensitivity. XIV-Species non specificity of biologically active substance(migration inhibiting factor) released during the interaction of hypersensitive lymphocytes with antigen in vitro.
Z. Immun. Forsch., 1971, 141, 119-28.

222- THOR D.E.
Delayed hypersensitivity in man : a correlate in vitro and transfer by an RNA extract.
Science., 1967, 157, 1567.

223- THOR D.E.
Human delayed hypersensitivity : an in vitro correlate and transfer by an RNA extract
Fed. roc., 1968, 27, 1, 16-20.

224- THOR D.E., JUREZIZ R.E., VEACHS R., DRAY S.
Cell migration inhibition factor released by ag from human peripheral lymphocyt es.
Nature, Août 1968, 219, 755-7.

225- THOR D.E., DRAY S.
A correlate for human delayed hypersensitivity : specific inhibition of capillary tube migration of sensitized human lymph nodes by tuberculin and histoplasmin.
J. of Immunol., 1968, 101, 1, 51-61.

226- TORRIGIANI G., DONIACH D., ROITT I.M.
Serum thyroglobulin legels in healthy subjects and in patients with thyroïd disease
J. Clin. Endocr., 1969, 29, 305-14.

227- TWAROG F.J., ROSE N.R.
Transfer of auto immune thyroïditis of the rat with lymph node cells.
J. Immunol., 1970, 104, 1467-75.

228- VALDIMARSSON H., HOLT L., RICHES H.R.C., HOBBS J.R.
Lymphocyte abdnormality in chronic mucocutaneous dandidiasis.
Lancet, 1970, 1, 1259-62.

229- VANHAELST L., HAYEZ F., BONNYNS M., BASTENIE P.A.
Thyroïd auto immune disease and thyroïd function in families of subjects with downs syndrome.
J. Clin. Endocr. Met., 1970, 30, 792-7.

230- WASSERMAN J., PACKALEN T.
Immune response to thyroglobulin in experimental allergic thyroïditis.
Immunology, 1965, 9, 1-10.

231- WEEKE B., BENDIXEN G.
Serum immunoglobulins and organ specific, cellular hypersensitivity in ulcerative colitis and cretin's disease.
Acta Med. Scand., 1969, 186, 87-92.

232- WEEKE E., WEEKE B., BENDIXEN G.
Organ specific, anti renal cellular hypersensitivity after kidney transplantation.
Acta Med Scand., 1970, 188, 307-15.

233- WARD P.A., DAVID J.R.
A leucocyte factor produced by sensitized lymphocytes.
Fed. Proc., 1969, 28, 630.

234- WARD P.A., BECKER E.
Potassium reversible inhibition of leukotaxis by ouabaïn.
Life Sci., 1970, 9, 6, 355-60.

235- WICK G., WITEBSKY E.
Suppression of auto immune thyroïditis in Obese strain (OS) chickens wit antibursa-cells and antithymus-cells sera.
Fed. roc., 1970, 29, 432 Abs.

236- WICK G., WITEBSKY E., KYTE J.H., BEUTNER E.H.
Immunofluorescent studies of the thyroïd auto antibodies in chickens of the obese strain (OS)
Clin. Exp. Immunol., 1970, 7, 173-85.

237- WICK G.
The effect of bursectomy, thymectomy and x-irradiation on the incidence of precipiting liver and kidney auto antibodies in chickens of the Obese strain
Clin. Exp. Immunol., 1970, 7, 187-99.

238- WICK G., KITE J.H., COLE R.K., WITEBSKY E.
Spontaneous thyroïditis in the obese strain of chickens.
III- The effect of bursectomy on the development of the disease.
J. Immunol., 1970, 104, 45-53.

239- WICK G., KITE J.H., WITEBSKY E.,
Spontaneous thyroïditis in the obese strain of chickens.
IV- The effect of ~~xxxxxxxxxx~~ thymectomy and thymobursectomy on the development of the disease.
J. immunol., 1970, 104, 54-62.

240- WILLIAMS T., GRANGER G.A.
Lymphocyte in vitro cytotoxicity : mechanism of lymphotoxin induced target-cell destruction.
J. Immunol., 1969, 102, 911-8.

241- WILLIAMS T.A., GRANGER G.A.,
Comparison of the sensitivities of various cell lines to human lymphotoxin.
Fed. Proc., 1970, 29, 306 Abs.

242- WILSON D.B., BILLINGHAM R.E.
Lymphocytes and transplantation immunity.
Adv. in Immunol., 1967, 7, 189-273.

243- WITEBSKI E., KITE J.H., WICK G., COLE R.K.
Spontaneous thyroïditis in the Obese strain of chickens.
I-Demonstration of circulating anto antibodies
J. Immunol., 1969, 103, 708-15.

244- YOSHIDA T., BENACERRAF B., Mc CLUSKEY R.T., VASSALLI P.
The effect of intravenous antigen on circulating monocytes in animals with delayed hypersensitivity.
J. Immun., 1969, 102, 4, 804-11.

245- YOSHIDA T., REISFELD R.A.
Two fractions with macrophage migration inhibitory activity from sensitized lymphocytes cultures.
Nature, 1970, 226, 856-7.

246- ZABRISKIE J.B., FALK R.E.
The reactivity of human lymphocytes to streptococcal antigen.
Fed. Proc., 1970, 29, 306 Abs.

247- ZABRISKIE J.B., FALK R.E.
In vitro reactivity of lymphocytes to particulate and soluble antigen.
Nature (Lond.), 1970, 226, 943-5.

248- ZEMBALA M., ASHERSON G.L.
The rapid purification of peritoneal exudate macrophages by Ficoll (polysucrose) density gradient centrifugation.
Immunology, 1970, 19, 677-8.

249-PERRUDET-BADOUX A.,FREI P.
On the mechanism of rosette-formation in human and experimental thyroiditis
Clin.Exp.Immunol.,1969,5,117-27

250-TRAYANOVA T.G.,SURA V.V?;SUC-MOLDAVSKY G.J.
Destruction of human cells in tissue culture by lymphocytes from patients with S.L.E.
Lancet,1966,1,452-4

251-WUEPPER K.D.,WEGIENKA L.C.,FUDENBERG H.H.
Immunlogical aspects of adrenocortical insuffisiency
Am.J.Med.(1969),46,206-16

252-NEVE P.
The ultrastructure of thyroid gland in auto-immune thyroiditis
Vichows Archivs Abt. A. Path.(I969)346,302-17

253-JAFFIOL C.
L'auto-immunisation anti thyroidienne
in:"La Thyrpide",vol.1,l'Expansion scientifique française Ed.
(1969),pp.381-406

254-MIROUZE J.,JAFFIOL C.
Les anticorps anti-thyroidiens.Problèmes physiopathologiques et pratiques.
Rev.FR. Endocr. Clin.(1964)5,415-24

255-Mc BRIDE A.,LECKBAND E.,SHORE B.,SCHIERMAN L.W.
Altered in vitro spleen cell growth in graft versus host reaction
Transplantation(1969)8,428-35

56-PEREY E.,FROMMEL D.,GOOD R.A.
Developpement du système lymphoide.Analyse fonctinnelle et perspectives thérapeutiques.
Rev.Fr.Et.Clin.Biol.(1969)XIV,925-31

FACULTE DE MEDECINE PITIE-SALPETRIERE

Année 1971 THESE N°

Pour le

DOCTORAT EN MEDECINE

(Diplôme d'Etat)

Par

GOUST Jean Michel Christian

né le 21 janvier 1941 à St Mandé (Seine)

VU
et PERMIS D'IMPRIMER
LE RECTEUR
DE L'ACADÉMIE DE PARIS

Présentée et soutenue publiquement le 19

# CONTRIBUTION A L'ETUDE D'UN NOUVEAU TEST D'HYPERSENSIBILITE RETARDEE "IN VITRO" CHEZ L'HOMME : LE TEST DE MIGRATION DES LEUCOCYTES (T. M. L.)

Président : M. P. BERTHAUX, Professeur

FACULTE DE MEDECINE · PITIE-SALPETRIERE